

**FATORES DE RISCO MICROBIOLÓGICOS E AMBIENTAIS NA DOENÇA  
INFLAMATÓRIA INTESTINAL – UMA REVISÃO**

Núria Ferreira Santos<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

Email: [nuria.ferreira.santos@gmail.com](mailto:nuria.ferreira.santos@gmail.com)

## ÍNDICE

RESUMO .....	5
ABSTRACT .....	7
LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS .....	9
INTRODUÇÃO .....	11
MATERIAL E MÉTODOS .....	14
FATORES DE RISCO MICROBIOLÓGICO .....	16
O EPITÉLIO E A BARREIRA MUCOSA INTESTINAL .....	16
O MICROBIOMA .....	19
A DISBIOSE E A DII .....	23
O PAPEL DO MICROBIOMA NA FISIOPATOLOGIA DA DII .....	28
O microbioma e a inflamação .....	28
Interação entre o metabolismo bacteriano e a atividade da DII .....	34
Vírus e fungos reúnem-se aos “arguidos” .....	35
Genética e microbioma em interação .....	36
O microbioma como elo fisiopatológico com outras patologias .....	38
INTERAÇÃO ENTRE O AMBIENTE E O MICROBIOMA .....	40
A INOVAÇÃO TERAPÊUTICA NA DII: ANJOS OU DEMÓNIOS? .....	44
Probióticos .....	44
Prébióticos .....	46
Transplante Fecal .....	47

Antibióticos.....	49
Outras possibilidades terapêuticas .....	52
FATORES DE RISCO AMBIENTAIS .....	55
FATORES DE RISCO NÃO MODIFICÁVEIS .....	56
GEOGRAFIA E SOCIEDADE .....	56
Geografia.....	56
Migrações .....	57
Hipótese da Higiene .....	58
POLUIÇÃO DO AR AMBIENTE .....	59
EXPOSIÇÕES PRÉ-NATAIS E NA INFÂNCIA.....	61
FATORES DE RISCO MODIFICÁVEIS.....	64
DIETA.....	64
Micronutrientes .....	64
Macronutrientes.....	66
Grupos alimentares.....	68
Padrões alimentares.....	68
Intolerâncias alimentares.....	69
TABACO .....	70
Efeitos na DC .....	70
Efeitos na CU .....	73
FÁRMACOS.....	74
Anti-inflamatórios não esteroides .....	74

Contraceptivos orais e terapêutica hormonal de substituição .....	76
STRESS – O EIXO CÉREBRO-INTESTINO .....	78
EXERCÍCIO FÍSICO.....	80
FATORES PARA OS QUAIS NÃO EXISTEM DADOS CONCLUSIVOS.....	81
DISCUSSÃO E CONCLUSÃO.....	82
AGRADECIMENTOS.....	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88

## RESUMO

**Introdução:** a Doença Inflamatória Intestinal (DII) é uma patologia que envolve o tubo digestivo, podendo ter manifestações extraintestinais. A fisiopatologia desta doença permanece obscura, apesar de se manter a crença de que ela ocorre devido a uma complexa interação entre fatores de risco genéticos, ambientais, imunitários e microbiológicos.

**Objetivo:** rever os dados relativos ao papel dos agentes microbiológicos e ambientais como fatores de risco para a DII, e clarificar os mecanismos fisiopatológicos envolvidos.

**Métodos:** pesquisa nas bases de dados “PubMed”, “b-On” e “RCAAP”, com restrição aos estudos publicados nos últimos 6 anos.

**Resultados:** não foram identificados microrganismos patogênicos comuns a todos os casos de DII. Verificou-se que a permeabilidade aumentada da barreira epitelial permite a translocação de microrganismos capazes de desencadear inflamação intestinal e que a DII é favorecida quando ocorre um desequilíbrio na homeostasia entre o microbioma intestinal e o hospedeiro. Quanto aos fatores de risco ambiental com influência fisiopatológica no desenvolvimento da DII, apenas foi possível identificar o consumo de tabaco como fator de risco na Doença de Crohn e fator protetor na Colite Ulcerosa. Os estudos sobre os restantes agentes ambientais revistos neste trabalho apresentaram resultados muito díspares entre eles.

**Conclusão:** as alterações no microbioma constituem um fator de risco para o desenvolvimento da DII, em particular num contexto multifatorial, mas é fundamental compreender no futuro a forma como cada microrganismo específico modela o sistema imunitário. Quanto aos fatores ambientais, a disparidade de resultados sugere que são necessários mais estudos sobre esta problemática, estudos esses que permitam excluir todas as variáveis de confusão, para que se obtenham conclusões válidas que permitam recomendar a

evicção ou potenciação da exposição a determinados fatores, bem como o desenvolvimento de terapêuticas dirigidas aos fatores de risco.

### **PALAVRAS-CHAVE**

Doença inflamatória intestinal; doença de Crohn; colite ulcerosa; microbiota; disbiose; ambiente; exposição ambiental; fatores de risco.

## ABSTRACT

**Introduction:** inflammatory bowel disease (IBD) is a pathology that involves the gastrointestinal tract and can have extra-intestinal manifestations. The physiopathology of this disease remains obscure, although it is believed that IBD occurs due to a complex interaction between genetic, environmental, immunity e microbiological risk factors.

**Objectives:** to revise the data concerning the role of microbiological and environmental agents as risk factors for IBD and clarify the pathophysiological mechanisms involved.

**Methods:** research on the databases “PubMed”, “b-On” and “RCAAP”, with restrictions to studies published over the last 6 years.

**Results:** no common pathogenic microorganisms to all IBD cases were identified. It was observed that the increase permeability of the epithelial barrier allows the translocation of microorganisms able to initiate intestinal inflammation e that IBD is favored when an imbalance in the homeostasis between the intestinal microbiota and the host occurs. Regarding to the environmental risk factor with pathophysiological influence in the development of IBD, only smoking was identified as a risk factor for Crohn Disease and a protective factor for Ulcerative Colitis. The remaining studies concerning the environmental agents revised in this work showed very different results between them.

**Conclusion:** the alterations on the microbiota are a risk factor for the development of IBD, especially in a multifactorial context, but it is essential to understand the way each microorganism modulates the immune system in the future. Regarding to the environmental factors, the variety of results suggests that more studies on this topic are necessary. Those studies should allow the exclusion of all confusion variables, to obtain valid conclusions that

allow recommending the eviction or potentiation of exposure to a certain factor, as well as the development of therapeutics targeted to specific risk factors.

### **KEYWORDS**

Inflammatory bowel diseases; Crohn disease; ulcerative colitis; microbiota; dysbiosis; environment; environmental exposure; risk factors.

## LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

**AIEC** – Adherent and invasive *Escherichia coli*

**AINE** – Anti-inflamatório não esteroide

**ATG16L1** – *Autophagy related protein 16-like 1*

**BGS** - Bifidogenic growth stimulator

**CARD15** – *Caspase recruitment domain-containing protein 15*

**CEACAM6** – Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6

**COX** – Cicloxigenase

**CRF** - Corticotropin-releasing factor

**CU** – Colite ulcerosa

**CYLD** – Debiquinating enzyme cylindromatosis

**DII** – Doença inflamatória intestinal

**DC** – Doença de Crohn

**GI** – Gastrointestinal

**IFN- $\gamma$**  - Interferão- $\gamma$

**IRGM** – *Immunity-related GTPase family M protein*

**LRRK2** – *Leucine-rich repeat kinase 2*

**MeSH** – Medical Subject Headings

**NF- $\kappa$ b** - Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells

**NOD** – Nucleotide-binding oligomerization domain

***NOD-2*** - *Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2*

**PAR** – Protease activated receptor

**PRR** – Pattern-recognition receptors

***PTPN2*** – *Protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 2*

**PUFA** - Polyunsaturated fatty acids

**RNA** - Ribonucleic acid

**SCFA** – Short-chain fatty acid

**SI** – Sistema imunitário

**SNP** - Single nucleotid polymorphisms

**TGF** – Transforming growth factor

**Th** – T-helper cell

**TLR** – Toll-like receptors

**TNF- $\alpha$**  - Tumor Necrosis Factor- $\alpha$

**Treg** – Células T reguladoras

***ULK1*** – *Unc-51 like autophagy activating kinase 1*

**Wnt** - Wingless-related integration site

***XBP-1*** - *X-box Binding Protein 1*

## INTRODUÇÃO

A Doença Inflamatória Intestinal (DII), designação que engloba essencialmente a doença de Crohn (DC), e a colite ulcerosa (CU), é uma entidade patológica que envolve o tubo digestivo (1), podendo ter manifestações extra-intestinais.

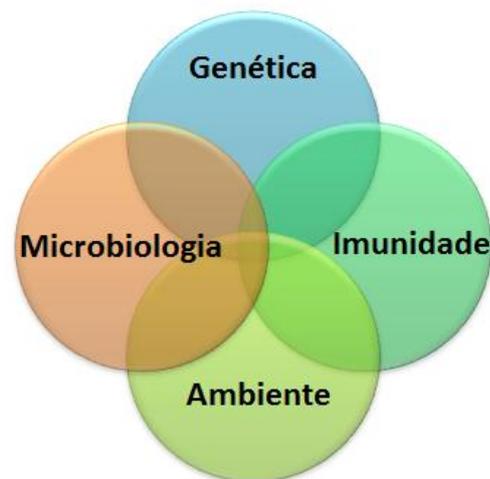
Na DC, ocorre uma inflamação transmural descontínua em qualquer parte do trato gastro-intestinal (GI) (2) localizada, na maioria das vezes, no íleo terminal ou cólon, ao passo que na CU a inflamação é contínua e limitada à mucosa do cólon e recto. A clínica de ambas caracteriza-se por diarreia, dor abdominal, mal-estar, perda ponderal e perda de sangue nas fezes (3). Ocorrem remissões e exacerbações que diminuem a qualidade de vida dos doentes e implicam tratamentos crónicos, desde a medicação à terapêutica cirúrgica (1).

Epidemiologicamente, a DII está a aumentar em incidência e a tornar-se uma doença global, deixando de estar confinada aos países ocidentais e localizados a norte, para se estender para o sul, desde meados do século XX (4). A incidência mundial da CU é de cerca de 1,5 a 24,5 indivíduos por cada 100 000 habitantes, ao passo que a da DC é mais baixa, rondando os 0,7 a 14,6 indivíduos (5). A incidência de ambas as patologias aumenta entre a segunda e quarta década de vida. O sexo feminino e masculino são igualmente afetados (4).

Na última década, verificou-se um aumento dos estudos subordinados à problemática da DII e à sua relação com a alteração dos microrganismos comensais do intestino. Este incremento de interesse deveu-se, em parte, ao aparecimento de novas técnicas da biologia molecular para análise do microbioma (6), sendo a sequenciação do ácido ribonucleico (RNA, *ribonucleic acid*) 16S dos ribossomas bacterianos e a sequenciação metagenómica do genoma bacteriano as principais novidades (2,7,8). Graças a estas técnicas vanguardistas, mais de 160 polimorfismos (SNP, *single nucleotid polymorphisms*) (9) - variações de um único nucleótido na sequência de um gene, ocorrendo com frequência elevada numa população (10) - foram

identificados como suscetíveis de aumentar o risco de DII, estando a maioria deles envolvidos na resposta do hospedeiro aos microrganismos (9). Desses, 110 SNPs são comuns à DC e CU, o que sugere um tronco genético comum às duas patologias (11). Todavia, esses genes apenas explicam 20-25% da hereditariedade, pelo que os fatores epigenéticos são apontados como os principais intervenientes na suscetibilidade à doença (12).

Pensa-se que quando um indivíduo geneticamente suscetível é exposto a determinado microrganismo ou fator ambiental ele irá desenvolver uma resposta imune desadequada, conduzindo à inflamação crônica e à consequente DII (13,14). A etiopatogenia e fisiopatologia da DII ainda permanecem obscuras, não tendo sido encontrados até à data fatores responsáveis individualmente pelo desenvolvimento da doença. Crê-se que a DII ocorre devido a uma complexa interação entre fatores de risco genéticos, ambientais, imunitários e microbiológicos (Fig. 1) (3,15).



**Figura 1:** Interação entre fatores genéticos, ambientais, imunitários e microbiológicos e na doença inflamatória intestinal (13).

Face ao problema de saúde global que a DII representa e às inúmeras questões que a sua fisiopatologia coloca, justifica-se este trabalho de revisão como forma de contribuição

para um melhor esclarecimento da sua etiopatogenia. Pretende-se resumir os dados disponíveis desde os últimos 6 anos até dezembro de 2015, em relação ao papel dos agentes microbiológicos e ambientais como fatores de risco para a DC e CU, e clarificar, sempre que possível, os mecanismos fisiopatológicos envolvidos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho de revisão, os artigos relevantes para o tema foram selecionados recorrendo à pesquisa nas seguintes bases de dados nacionais e internacionais: “PubMed”; “b-On” e “Repositório Científico de Acesso Aberto de Portugal”.

No que respeita à pesquisa na “PubMed”, foi utilizado o termo MeSH “Inflammatory Bowel Diseases” combinado individualmente com os termos MeSH “Dysbiosis”; “Environment”, “Environmental Exposure”, “Microbiota” e “Risk Factors”. Foram construídas cinco equações de pesquisa, na qual se aplicaram os filtros que restringiram a pesquisa a artigos redigidos na língua inglesa ou portuguesa, respeitantes a estudos realizados em seres humanos nos últimos 6 anos. Com a equação "Inflammatory Bowel Diseases"[Majr] AND "Dysbiosis"[Mesh] obteve-se um total de 49 artigos. Com a equação "Inflammatory Bowel Diseases"[Majr] AND " Environment"[Mesh] obtiveram-se 381 resultados, pelo que foi necessário modificar a equação para "Inflammatory Bowel Diseases"[Mesh] AND "Environmental Exposure"[Mesh], restringindo assim os resultados para 68 artigos. Com a equação (("Inflammatory Bowel Diseases"[Majr]) AND "Microbiota"[Mesh]) AND "Risk Factors"[Mesh] foram obtidos 20 resultados.

Com o Repositório Científico de Acesso Aberto de Portugal foram utilizadas como palavras-chave “Doença Inflamatória Intestinal”; “Doença de Crohn” e “Colite Ulcerosa” combinadas individualmente com “Disbiose” e, noutra pesquisa, com “Ambiente”. Em ambas as equações de pesquisa não foram obtidos resultados. Aplicando apenas o termo “Doença Inflamatória Intestinal”, e restringindo a pesquisa aos últimos 6 anos, foram obtidos 44 artigos, dos quais apenas 1 foi considerado relevante. Os restantes versavam sobre temas fora do âmbito deste trabalho.

A revisão versou sobre artigos publicados até ao término do mês de dezembro de 2015. A seleção da literatura relevante para este trabalho foi feita através de uma leitura crítica do título, do resumo apresentado nos artigos ou da própria leitura integral do trabalho, tendo sido excluídos artigos de opinião, e todos aqueles cujo conteúdo não se revelou adequado ao âmbito e objetivos gerais do trabalho. Foi também considerado o fator de impacto da revista onde o artigo foi publicado, bem como o número de vezes que o artigo foi citado. Por fim, entre as referências citadas nas publicações selecionadas, foram identificados e revistos outros artigos considerados significativos para este trabalho de revisão, saindo pontualmente fora dos limites temporais da pesquisa realizada, mas que foram introduzidos devido à sua relevância científica.

## FATORES DE RISCO MICROBIOLÓGICO

### O EPITÉLIO E A BARREIRA MUCOSA INTESTINAL

O intestino tem uma parede organizada estruturalmente de forma semelhante ao restante trato gastrointestinal (GI) apresentando, de fora para dentro: serosa, camada muscular, submucosa e mucosa. Debruçando-nos apenas sobre a mucosa, a parte mais relevante para este trabalho de revisão, constata-se que ela tem características distintas no intestino delgado e no intestino grosso (16).

A mucosa do intestino delgado apresenta vilosidades intestinais revestidas por um epitélio cilíndrico simples. Este epitélio é formado por 3 tipos de células: os enterócitos, as células caliciformes e as células enteroendócrinas. As primeiras estão envolvidas na absorção. As segundas secretam muco (16), constituído principalmente pelas glicoproteínas mucinas, sendo a mucina 2 (Muc2) a mais abundante no trato GI (17). As células enteroendócrinas secretam hormonas peptídicas que desempenham funções ao nível da reparação tecidual e angiogénese, entre outras (17). O epitélio cilíndrico constitui, entre as vilosidades intestinais, invaginações que originam as glândulas ou criptas de Lieberkhün. Na zona mais profunda dessas glândulas existem as células de Paneth que secretam proteínas defensinas, capazes de destruir a membrana celular das células bacterianas, bem como as enzimas lisozima e fosfolipase A2, cuja função é digerir a parede das bactérias (16). As células epiteliais encontram-se ligadas célula a célula, na membrana basolateral, através de complexos proteicos que regulam a permeabilidade paracelular: as junções apertadas ou de oclusão (*tight-junctions*), os desmossomas e as junções aderentes (*adherens junctions*) (17). Estas células expressam também recetores de reconhecimento de padrões (PRR, *pattern-recognition receptors*), responsáveis por identificar microrganismos e desencadear a resposta imune adequada face ao agente invasor. Dois membros da família dos PRR são os recetores tipo

domínio de oligomerização de ligação de nucleótidos (NOD, *nucleotide-binding oligomerization domain*) e os recetores toll-like (TLR, *toll-like receptors*) (3), utilizados pelo hospedeiro para identificar antigénios como, por exemplo, os bacterianos, e desencadear a adequada resposta do sistema imunitário (SI) (18). A função destes antigénios bacterianos na fisiopatologia da DII será clarificada na secção “O papel do microbioma na fisiopatologia da DII”.

Para que a homeostasia do epitélio seja mantida são necessários os polipeptídeos fator de crescimento transformante (TGF, *transforming growth factor*)- $\beta$  e TGF- $\alpha$ , e a via de sinalização Wnt (*wingless-related integration site*) cujas funções são, respetivamente, inibir o crescimento celular, estimular a proliferação celular e renovar o epitélio (17). Essa renovação epitelial ocorre a cada 48 - 72 horas (19).

O eixo das vilosidades intestinais é formado pelo tecido conjuntivo laxo da lâmina própria. Nesse tecido existem fibras de reticulina que formam uma rede de suporte às células linfoides. Por vezes, neste tecido, formam-se agregados de nódulos linfáticos, denominados placas de Peyer, que se podem estender até à submucosa (16).

No que respeita à mucosa do intestino grosso saudável, as diferenças mais marcantes face à estrutura do intestino delgado passam pela ausência de vilosidades intestinais e de células de Paneth (16). Todavia, na DII surgem no cólon células de Paneth metaplásicas, também produtoras de defensinas, proteínas para as quais se admite um envolvimento na patogénese desta doença (17).

No cólon dos indivíduos saudáveis existe uma camada mucosa que cobre as células epiteliais, constituída por 2 partes: a interna e a externa. Enquanto que a interna é aderente e estéril, a externa é pouco aderente e produz condições favoráveis ao crescimento bacteriano. Estas camadas estão organizadas em torno da mucina Muc2, formando uma rede polimérica

que permite manter a camada mucosa do cólon ancorada às células epiteliais (20). O muco desta camada tem propriedades lubrificantes, hidrata a mucosa e confere proteção através da presença de IgA e de peptídeos antimicrobianos, que ajudam a impedir a invasão do epitélio por microrganismos do lúmen intestinal (17). Assim, os microrganismos aderem ao muco e não às células epiteliais diretamente (20). No entanto, devido a modificações na espessura do muco, alterações dos PRRs, produção de peptídeos antimicrobianos alterada, e aumento da permeabilidade epitelial, a barreira mucosa pode ficar comprometida a diferentes níveis, criando condições para o desenvolvimento de diversas patologias (17). De facto, na mucosa inflamada encontramos depleção das células caliciformes, dilatação das criptas, infiltrado inflamatório mononuclear e linfocítico, e perda de células epiteliais (21) que, na DII, por exemplo, fragilizam a barreira mucosa, e permitem que as bactérias adiram diretamente ao epitélio, o que facilita a progressão da doença (19). Todavia, estas alterações isoladas não são capazes de manter uma resposta inflamatória (11).

## O MICROBIOMA

O microbioma consiste no conjunto de microrganismos que colonizam um determinado nicho biológico (10,22). No âmbito do tema deste trabalho de revisão, o nicho corresponde ao trato GI, pelo que nos referiremos, em particular, ao microbioma intestinal humano.

O microbioma humano é composto predominantemente por mais de 1 000 espécies de bactérias (2,23). A maioria destas bactérias são *Gram*-positivas (24) anaeróbias e pesam no seu conjunto aproximadamente 1,5kg (25), sendo o cólon o órgão onde existem em maior quantidade, e o estômago o órgão menos colonizado (26). No intestino, os filos com o maior número de bactérias são o dos *Bacteroidetes* e o dos *Firmicutes* (27,28), e as espécies pertencentes a estes filos são maioritariamente anaeróbias obrigatórias quanto à respiração celular (29). A maioria das restantes bactérias pertence aos filos *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia* e *Cyanobacteria* (27) e os géneros mais comuns são os *Bacteroides*, *Faecalibacterium* e *Bifidobacterium* (25). No reino dos fungos, os géneros *Ascomycetes*, *Basidiomycetes*, *Candida*, *Gleotinia* e *Galactomyces* são os mais vulgares e, nos protozoários, são usuais os *Blastocystis* (5). A Tabela 1 resume a composição vulgar do microbioma intestinal. Nas outras zonas do trato GI a composição bacteriana é diferente (8). Apesar de existirem espécies comuns à maioria da população, as diferenças no microbioma também se verificam entre indivíduos distintos, dependendo também do estado de saúde, dieta, localização geográfica e idade dos mesmos (18).

**Tabela 1:** Microbioma intestinal adulto saudável (2,5,25)

<b>Microbioma vulgar do intestino</b>			
<b>Bactérias</b>		<b>Fungos</b>	<b>Protozoários</b>
<u>Filos</u>	<u>Gêneros</u>	<u>Gêneros</u>	<u>Gêneros</u>
<i>Bacteroidetes</i> (*)	<i>Bacteroides</i>	<i>Ascomycetes</i>	<i>Blastocystis</i>
<i>Firmicutes</i> (*)	<i>Faecalibacterium</i>	<i>Basidiomycetes</i>	
<i>Actinobacteria</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Candida</i>	
<i>Fusobacteria</i>		<i>Gleotinia</i>	
<i>Proteobacteria</i>		<i>Galactomyces</i>	
<i>Verrucomicrobia</i>			

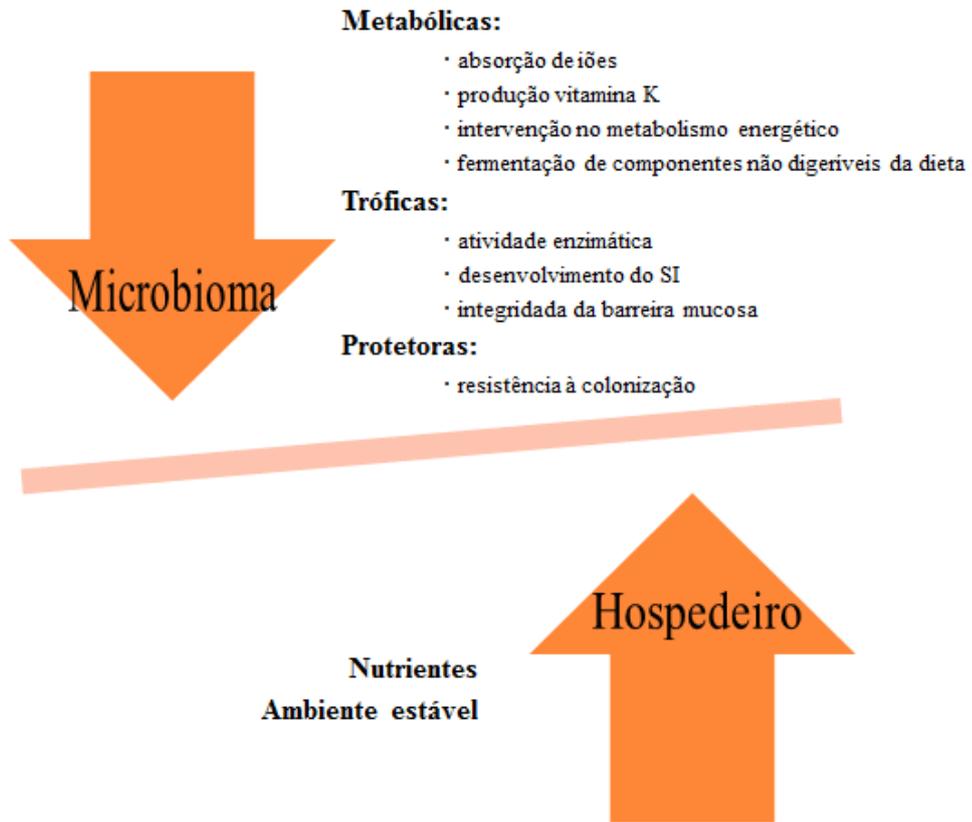
\* mais comum

Contrariamente à noção de que é apenas ao nascimento que adquirimos as bactérias que irão fazer parte do nosso microbioma, sabe-se que o feto desenvolve um microbioma inicial pré-natal. Ao nascimento recebe um suplemento microbiano dependente do canal de parto (30): um parto vaginal confere um grupo de bactérias semelhante às que colonizam a vagina materna, enquanto que num parto por cesariana essas bactérias são semelhantes às da pele (31). A composição do microbioma vai mudando ao longo dos primeiros meses de vida, e varia com a dieta do recém-nascido, tornando-se semelhante à do indivíduo adulto por volta dos 3 anos de idade, mantendo-se estável a partir desta fase, e variando apenas com fatores ambientais ou geográficos. Esses fatores ambientais podem alterar-se e, em um ou dois dias, operar uma mudança na composição do microbioma (32). Face à composição facilmente mutável do microbioma, são preferíveis estudos sobre a DII na população pediátrica (33).

Fisiologicamente, o microbioma intestinal do adulto tem várias funções, que podem ser agrupadas em três grupos unificadores (34): metabólicas, tróficas e protetoras. Na função metabólica, o microbioma ajuda na absorção de iões, produz vitamina K, e intervém no

metabolismo energético e na fermentação de componentes não digeríveis da dieta, fornecendo nutrientes ao hospedeiro. Já a função trófica diz respeito ao papel do microbioma na atividade enzimática, no desenvolvimento do SI, na maturação das células epiteliais do intestino e da respectiva barreira mucosa, bem como na angiogênese do eixo das vilosidades intestinais. Por último, o microbioma desempenha funções protetoras contra microrganismos patogênicos (22,34), num processo conhecido como resistência à colonização, que consiste na ocupação dos nichos do hospedeiro pelas bactérias comensais, impedindo que esses nichos sejam colonizados por microrganismos patogênicos, evitando assim que estes últimos se desenvolvam e provoquem doença (22,35). Noutros estudos (36), é também reconhecido que o microbioma desempenha atividades na modulação do sistema nervoso entérico, na permeabilidade e na função imune da mucosa intestinal, na modulação da dor, e no eixo hipotálamo-hipofisário.

Em contrapartida a estas funções, o hospedeiro fornece nutrientes e um ambiente estável ao desenvolvimento dos microrganismos (24), estabelecendo-se entre ambos uma relação de mutualismo (2). Na Fig. 2 está representada esta relação.



**Figura 2:** Interações microbioma-hospedeiro (2,22,24,34–36).

## A DISBIOSE E A DII

Nem sempre existe equilíbrio entre o microbioma e o hospedeiro, pelo que foi necessário criar um novo conceito que definisse esta ideia. O conceito de “disbiose” foi introduzido pela primeira vez em 2014 no Medical Subject Headings (MeSH) Database. A disbiose traduz as alterações qualitativas e quantitativas na composição do microbioma que poderão conduzir ao desequilíbrio da homeostase, contribuindo para o desenvolvimento de patologia, a qual é frequentemente acompanhada de um estado inflamatório (10). No entanto, ainda não é claro se a inflamação é a causa ou consequência da disbiose (24,26,37), questão que abordaremos na seção “O papel do microbioma na fisiopatologia da DII”. A quebra do mutualismo estabelecido entre o hospedeiro e os microrganismos comensais é apontada como o evento fisiopatológico desencadeante da DII (6,21). Este evento perturbador será da provável responsabilidade da dieta e de outros fatores ambientais (6), cuja ação detalhada será explorada nas seções “Interação entre o ambiente e o microbioma” e “Fatores de risco ambientais”.

Em linhas gerais, a disbiose intestinal traduz-se numa diminuição na biodiversidade bacteriana e num aumento na quantidade de bactérias (38). Este número de espécies que existe numa comunidade – riqueza - e sua abundância relativa pode ser chamada de diversidade- $\alpha$  (38,39).

Na DII o filo *Firmicutes* diminui em biodiversidade e os filós *Proteobacteria* e *Bacteroidetes* aumentam (12,25). No entanto, também existem dados contraditórios demonstrando a diminuição dos *Bacteroidetes* na DII (27). Nas tabelas 2 e 3 estão resumidas as principais alterações ao nível do microbioma bacteriano do adulto com DII, DC e CU (2,25).

**Tabela 2:** Bactérias aumentadas na DII, na DC e na CU nos adultos (2,25)

Aumentam					
	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero
<b>DII</b>				<i>Desulfovibrionaceae</i>	<i>Desulfovibrio</i>
					<i>Bilophila</i>
<b>DC</b>	<i>Bacteroidetes</i>				<i>Bacteroides</i>
	<i>Proteobacteria</i>		<i>Enterobacteriales</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella</i>
					<i>Shigella</i>
					<i>Escherichia</i>
	<i>Actinobacteria</i>				<i>Mycobacterium</i>
<b>CU</b>	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>			
	<i>Bacteroidetes</i>				
					<i>Enterococcus</i>
					<i>Bifidobacterium</i>

**Tabela 3:** Bactérias diminuídas na DII, na DC e na CU nos adultos (2,25)

Diminuem				
Filo	Ordem	Família	Gênero	Espécie
<b>DII</b>	<i>Bacteroidetes</i>		<i>Bacteroides</i>	
	<i>Firmicutes</i>		<i>Lactobacillus</i>	
<b>DC</b>	<i>Actinobacteria</i>		<i>Bifidobacterium</i>	
	<i>Firmicutes</i>	<i>Clostridiales</i>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Roseburia</i>
			<i>Ruminococcaceae</i>	
			<i>Eubacterium</i>	
			<i>Faecalibacterium</i>	<i>Faecalibacterium prausnitzzi</i>
			<i>Lactobacillus</i>	
<b>CU</b>	<i>Bacteroidetes</i>		<i>Bacteroides</i>	
	<i>Firmicutes</i>	<i>Clostridiales</i>	<i>Lachnospiraceae</i>	<i>Roseburia hominis</i>
			<i>Ruminococcaceae</i>	
			<i>Clostridium</i>	
			<i>Eubacterium</i>	
			<i>Faecalibacterium</i>	<i>Faecalibacterium prausnitzzi</i>
			<i>Lactobacillus</i>	

Em relação aos outros domínios e reinos do microbioma e como são afetados em condições de disbiose, poucas são as informações disponíveis (25), já que a maioria dos estudos neste campo são baseados na sequenciação do RNA 16S dos ribossomas procarióticos (8,38) e esta técnica apenas permite o estudo dos procariontes e não de microrganismos constituídos por células eucariotas como, por exemplo, os fungos. Ainda assim, segue-se um pequeno apontamento sobre as novidades desta temática.

No que respeita aos vírus – o chamado viroma –, na DII aumentam os vírus e os bacteriófagos, em especial os da ordem *Caudovirales* e os da família *Microviridae* (39). Os bacteriófagos são mais abundantes do que as bactérias e o número de partículas vírus-like aumenta na DC, especialmente em áreas não ulceradas da mucosa. Porém, o significado prático destas alterações ainda permanece obscuro (9). As alterações no viroma não são justificadas pela diminuição, já comprovada, da diversidade- $\alpha$  do microbioma bacteriano e são diferentes, consoante falamos de DC ou de CU, isto é, são específicas de cada patologia (39).

Já no que respeita aos fungos) – o chamado micoma (40) - a informação disponível sobre o seu papel na DII é mais escassa. Os fungos também pertencem ao microbioma comensal, as espécies variam entre cada indivíduo, e a sua diversidade está inversamente relacionada com a diversidade bacteriana, o que se explica pela função de restrição do crescimento fúngico que o microbioma bacteriano desempenha. Na DC os fungos aumentam em diversidade nas zonas inflamadas da mucosa intestinal e nas fezes. Num estudo recente, foi identificado na mucosa inflamada da DC um aumento dos fungos patogénicos oportunistas *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans*, *Alternaria brassicicola* e *Gibberella moniliformis*, o que poderá implicá-los na resposta inflamatória verificada na DC. Nas fezes, aumentam *Aspergillus clavatus*, *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*. Esta distinção por localização (luminal/fecal *versus* mucosa) prende-se com o facto dos microrganismos associados à mucosa serem diferentes dos presentes nas fezes, podendo os associados à mucosa interagir com o hospedeiro diretamente (21).

Quanto aos parasitas intestinais (protozoários e helmintas), estes interagem com o microbioma comensal, modificando o equilíbrio entre o microbioma intestinal e o hospedeiro (41). Os helmintas parecem desempenhar um papel importante na regulação da imunidade, diminuindo as citocinas pró-inflamatórias, pelo que é legítimo pensar-se no seu papel na

fisiopatologia de doenças como a DII. A favor desta hipótese, sabe-se que as zonas com maior taxa de infecções por parasitas têm uma incidência mais baixa de doenças autoimunes (41).

## O PAPEL DO MICROBIOMA NA FISIOPATOLOGIA DA DII

Desde o século XIX que se suspeitava do envolvimento do microbioma na fisiopatologia da DII, mas foi apenas após a descoberta dos primeiros genes de suscetibilidade para esta doença que a relação se tornou mais evidente. Na verdade, muitos destes genes são responsáveis por mediar a interação entre o microbioma e o hospedeiro (9,12). A sua ação será explorada neste capítulo, no tópico “Genética e microbioma em interação”.

Face ao provável envolvimento dos microrganismos na DII sabe-se que em modelos animais com ausência do microbioma comensal, a integridade epitelial e o desenvolvimento de células reguladoras fica comprometido (42). Na verdade, em modelos animais colocados em condições estéreis, a DII não se desenvolve (43), o que suporta a hipótese do envolvimento do microbioma no desenvolvimento da doença (42,44).

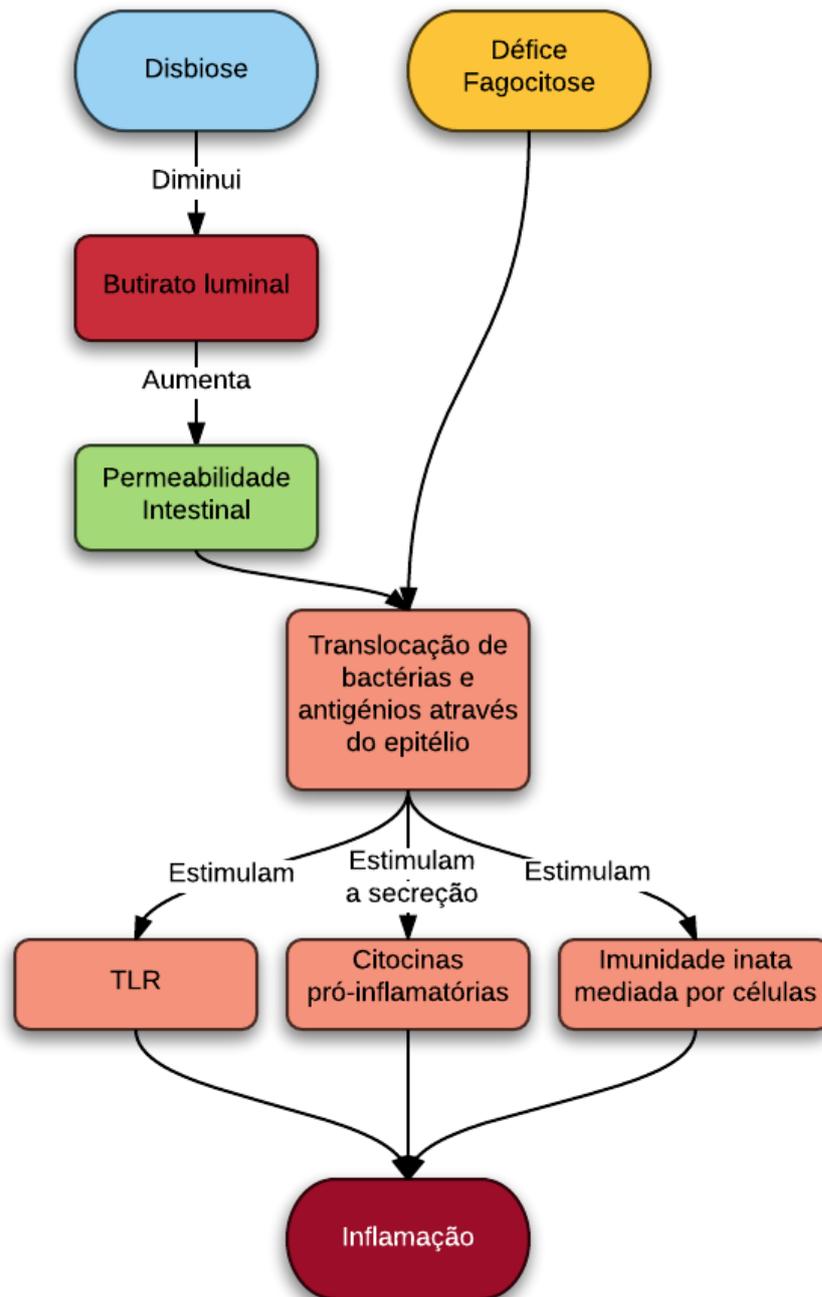
São teorizadas 3 hipóteses no que concerne à problemática do papel do microbioma na DII. Primeira: existe um microrganismo patogénico específico e persistente em todos os casos de DII? Segunda: a alteração da permeabilidade da barreira epitelial altera a sua mediação na translocação de bactérias, potenciando o desenvolvimento da doença? Terceira: a DII é provocada por um desequilíbrio entre os microrganismos comensais e os potencialmente lesivos (7,26)? Ao longo deste capítulo procuraremos responder a estas questões.

### O microbioma e a inflamação

Quando os antígenos dos microrganismos são apresentados pelas células apresentadoras de antígenos às células T imaturas (*T naive*), estas últimas iniciam a sua diferenciação para células Th (*T-helper cell type*) efetoras. As células Th podem incluir os tipos Th1, Th2 e Th17 (45). A inflamação da CU é caracterizada por uma resposta Th2 atípica e aumento da produção de citocinas como a IL-13; a inflamação da DC é mediada por uma resposta Th1, que desencadeia a libertação de fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , *tumor*

*necrosis factor-alpha*) e interferão- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ , *interferon-gamma*), e pela infiltração tecidual de Th17 (3).

Assumindo que a disbiose é causa da inflamação e não o contrário, encontramos na literatura várias hipóteses para explicar este mecanismo fisiopatológico. Uma delas tenta demonstrar que o desequilíbrio microbiológico num indivíduo com predisposição genética para defeitos na fagocitose, desencadeia uma diminuição dos níveis de butirato intraluminais (função indicada no subcapítulo “Interação entre o metabolismo bacteriano e a atividade da DII”), o que se vai traduzir num aumento da permeabilidade epitelial, facilitando a translocação das bactérias através do epitélio (26). Esta alteração na permeabilidade, em conjunto com a instalação de um défice de eliminação das bactérias invasoras por fagocitose, vai desencadear a estimulação excessiva dos TLR, a secreção de citocinas pró-inflamatórias e a ativação da imunidade inata mediada por células que, conseqüentemente, iniciam a inflamação observada na DII (Fig. 3) (26).



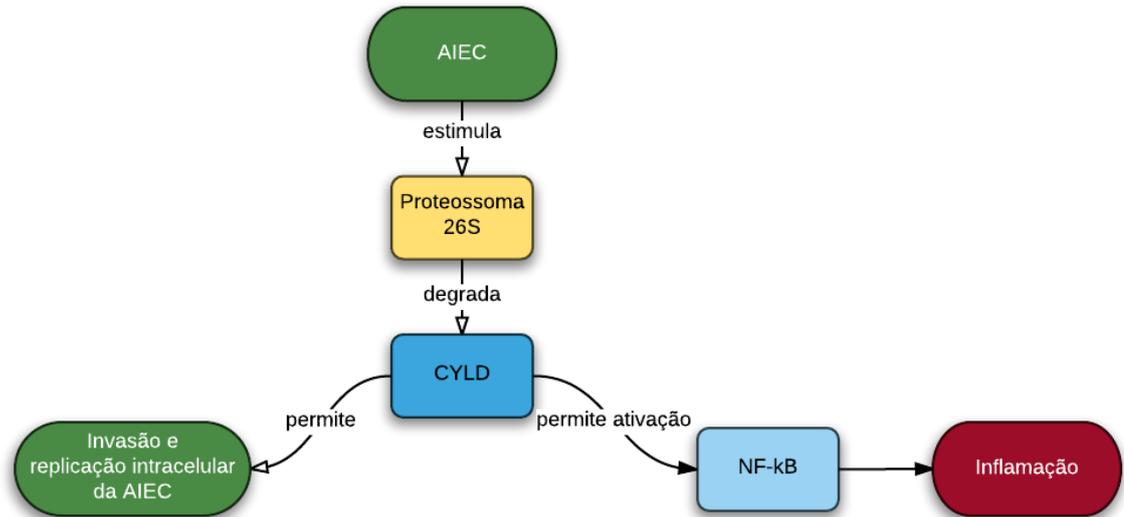
**Figura 3:** A disbiose e o défice de mecanismos fagocitários na inflamação (26). TLR: recetores toll-like, *toll-like receptors*.

De facto, a alteração da permeabilidade epitelial já foi demonstrada em doentes com DC, estando aumentada nas fases ativas da doença e diminuída nas fases de remissão. Este aumento de permeabilidade poderá explicar a cronicidade da inflamação que se verifica na

DII e não apenas o seu início, pois ao permitir que as bactérias presentes no lúmen intestinal transitem facilmente da mucosa para a submucosa, leva à sua proliferação descontrolada no interior das células hospedeiras (7), sendo um fator contributivo para a manutenção crônica do estado inflamatório.

A cronicidade da inflamação verificada na DII também pode ser explicada, em parte, pelas características pró-inflamatórias dos patobiontes. Os patobiontes são microrganismos capazes de manter um estado inflamatório crônico no hospedeiro, e fazem-no suprimindo o crescimento dos microrganismos comensais e perpetuando o ciclo de inflamação por contínua estimulação do SI. Por exemplo, na CU porque existe diminuição da enzima tiosulfato sulfurtransferase, há aumento das bactérias produtoras de ácido sulfúrico, uma molécula com capacidades pró-inflamatórias e genotóxicas (9).

Ainda sobre a problemática da inflamação provocada pelo microbioma, outro estudo (46) evidencia como é que as próprias bactérias induzem um estado inflamatório através da modulação do sistema ubiquitina-proteassoma. Segundo estes autores (46), a *Escherichia coli* aderente e invasiva (AIEC, *adherent and invasive Escherichia coli*), um grupo patogénico específico da espécie *Escherichia coli*, com aptidão para aderir e invadir as células do epitélio intestinal, e de se replicar nos macrófagos intestinais sem provocar a sua destruição (7,33,47), é capaz de modular o sistema referido através da estimulação da atividade do proteassoma 26S nas células epiteliais intestinais. O proteossoma 26S degrada a ubiquitinase CYLD (*debiquinating enzyme cylindromatosis*), reduzindo a sua concentração. Ao diminuir a CYLD, a bactéria é capaz de invadir e de se replicar intracelularmente, ativando o fator nuclear cappa-potenciador das cadeias leves das células B ativadas (NK- $\kappa$ B, *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), fator de transcrição capaz de desencadear a resposta inflamatória excessiva que vemos na DII (Fig. 4) (46).



**Figura 4:** Indução de inflamação intestinal pela AIEC (46). AIEC: Adherent and invasive *Escherichia coli*; CYLD: Deubiquitinating enzyme cylindromatosis; NF-κB: Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.

Foi também comprovada a associação da AIEC com a DC ileal. No íleo há aumento da expressão nas células epiteliais do recetor carcinoembrionário molécula de adesão celular 6 relacionada com o antígeno (6) (CEACAM6, *carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6*), cuja família desempenha funções na adesão, diferenciação e proliferação celulares (48). As fímbrias das AIECs são capazes de aderir a este recetor, aumentando a libertação de TNF- $\alpha$  (6) e estimulando a formação de granulomas, o que leva à cronicidade da resposta inflamatória (7,46).

As proteases são enzimas que catalisam a clivagem de ligações peptídicas, sendo essenciais tanto para o funcionamento normal das bactérias como para processos fisiológicos do hospedeiro humano (47). As proteases bacterianas podem funcionar como fatores de virulência dos patobiontes ou, no caso das libertadas pelas bactérias comensais, interagir com os recetores de proteases das células epiteliais, induzindo um aumento da permeabilidade

intestinal, e o conseqüente risco de desenvolver DII. As proteases das bactérias comensais fazem parte de três (serina, cisteína e metaloproteases) dos cinco grupos de proteases existentes, tendo provável origem nas espécies *Bacteroides*, *Streptococcus* e *Clostridium*.

Através dos quatro mecanismos, seguidamente enunciados, estas proteases podem constituir fatores de risco para o aparecimento da DII (47). O primeiro mecanismo passa por facilitar a aderência e invasão do epitélio. O segundo mecanismo passa pela ativação dos recetores ativados por proteases (PAR, *protease activated receptors*), cuja expressão está aumentada nos casos da DII; são conhecidos sete agonistas dos PAR. Os PAR1 provocam apoptose das células epiteliais, os PAR2 e PAR4 estimulam a inflamação e o aumento da permeabilidade intestinal. O terceiro mecanismo envolve a alteração das funções normais do epitélio intestinal, conduzindo à inflamação, por exemplo através da ação das proteases nas *tight-junctions*. Por fim, o quarto mecanismo envolve a ação das proteases na desregulação do SI do intestino, através da alteração que exercem na sinalização das citocinas, e na ação dos neutrófilos, monócitos, macrófagos e células *natural-killer* (47).

Ainda na relação da atividade enzimática com o microbioma, a fosfatase alcalina, uma enzima secretada pelos enterócitos, interfere com o epitélio e os microrganismos intestinais através da regulação de determinados fatores que interferem diretamente com eles ou com a inflamação, exercendo um efeito protetor. Reconhece e desfosforila o lipopolissacarídeo das bactérias *Gram*-negativas, impede a transmigração das bactérias através do epitélio, e evita a ativação de respostas anti-inflamatórias através, por exemplo, da desfosforilação e conseqüente inativação de nucleótidos libertados durante a lesão celular. Estes nucleótidos, dos quais a adenosina difosfato é um exemplo, encontram-se aumentados na inflamação e já foram relacionados diretamente com a inflamação intestinal. A fosfatase alcalina é regulada por macronutrientes da dieta, diminuindo com o jejum prolongado, aumentando nessas situações a suscetibilidade às infeções por microrganismos patogénicos. É um dado a favor

das complexas interações entre microbioma e dieta, que serão exploradas na secção “Interação entre o ambiente e o microbioma” (49).

Nos doentes com CU tratados com proctocolectomia e bolsa ileal, a complicação mais frequente em 50% dos casos parece estar relacionada com a disbiose do microbioma da bolsa. Após proctocolectomia, ocorre uma diminuição da diversidade bacteriana na bolsa ileal e um aumento da estimulação do SI, conduzindo à inflamação da bolsa – pouchite (50,51). Um estudo recente (51), avaliou quais as bactérias alteradas na pouchite, em relação a doentes com CU e bolsas ileais normais, e verificou uma diminuição das bactérias do género *Faecalibacterium* e um aumento das da família *Fusobacteriaceae*. A diminuição das bactérias do género *Faecalibacterium* não surpreendeu, uma vez que se trata de um marcador típico da DII. O aumento das bactérias da família *Fusobacteriaceae* correlacionou-se positivamente com o aumento da proteína C reativa, um biomarcador de atividade inflamatória, sugerindo que as bactérias pertencentes a esta família contribuem para a atividade inflamatória verificada na pouchite.

### **Interação entre o metabolismo bacteriano e a atividade da DII**

A disbiose na DII causa alteração não só na diversidade mas também na função do microbioma (28). Um estudo (28) identificou que na DII ocorre um aumento dos radicais livres de oxigénio no intestino, criando um ambiente de elevado *stress* oxidativo. Esse *stress* predispõe à inflamação e cria condições favoráveis à multiplicação de determinadas bactérias e à diminuição de outras. Por exemplo, ocorre uma diminuição das bactérias capazes de produzir ácidos gordos de cadeia curta (SCFA, *short-chain fatty acid*) a partir do metabolismo da fibra da dieta (28). Esses SCFAs, na sua maioria acetato, butirato e propionato, têm atividades imunomoduladoras, e constituem a fonte primária de energia para as células

epiteliais do cólon (27,28), o que lhes permite melhorar as funções protetoras da barreira intestinal (52).

Um exemplo de bactéria que forma butirato através das fibras não digeríveis da dieta (34) e que está diminuída na DC e CU (25,52–55) é a *Faecalibacterium prausnitzii*. Esta espécie secreta metabolitos com propriedades anti-inflamatórias (19,34,56), capazes de bloquear a ativação do NF-κB e a secreção de IL-8 (52), IL-12 e IFN-γ (55).

### **Vírus e fungos reúnem-se aos “arguidos”**

Abordando o papel do viroma na fisiopatologia da DII, sabe-se que os bacteriófagos são capazes de induzir a resposta imunitária humoral, e podem modificar o microbioma bacteriano através da transmissão de genes patogênicos (39) para as bactérias, e através de relações de predação. Tal acontece, por exemplo, nos casos em que introduzem genes que conferem resistência a antibióticos ou quando invadem bactérias e as destroem de forma lítica, respetivamente.

Particularizando agora sobre um vírus específico, sabe-se que cerca de 70% da população adulta é portadora assintomática do citomegalovírus, podendo atingir os 90% em populações de países em desenvolvimento, e que a reativação da infeção ocorre, geralmente, em casos de imunossupressão. Daí que esta infeção seja frequente nos doentes com CU severa medicados com terapia imunossupressora. A relação deste vírus com a DC não está claramente estabelecida, mas é expectável que ela exista, face à imunossupressão terapêutica a que os doentes com DC severa são sujeitos (57). No entanto, num estudo de revisão (57), não foi possível provar se a infeção é uma consequência da imunossupressão ou se, por outro lado, o vírus também desempenha um papel na fisiopatologia destas doenças. Já se comprovou que doentes infetados com citomegalovírus e medicados com antivirais têm remissão da colite em 67% a 100% dos casos, o que poderá ser um ponto a favor do impacto

do vírus na fisiopatologia destas doenças. Face a esta evidência, recomenda-se que, nos casos severos refratários à terapêutica convencional de CU ou DC, se teste por biópsia intestinal a presença do citomegalovírus e, se presente, se adicione ganciclovir à terapêutica convencional (57).

Quanto aos fungos, demonstrou-se que na DC os doentes, bem como os seus familiares, apresentam o dobro da colonização do intestino por *Candida albicans* relativamente aos indivíduos saudáveis da população em geral (7,25). Também é sabido que este fungo pode ter ações antagônicas: tanto promove imunotolerância, quando funciona como um fungo comensal, como provoca inflamação e candidíase intestinal, quando a sua população prevalece sobre as demais (21).

Sabe-se também que o intestino do hospedeiro pode interagir com os fungos através de recetores como a dectina 1. Este recetor é capaz de reconhecer o  $\beta$ -1,3-glucano presente na parede celular da maioria dos fungos. Sem essa identificação, a fagocitose e eliminação dos fungos não ocorre, pelo que os indivíduos com mutações nestes recetores são mais suscetíveis ao aumento da diversidade fúngica intestinal (40). Um estudo em modelos animais (40) mostrou que ratos deficientes neste recetor têm maior suscetibilidade para o desenvolvimento de colite, o que poderá indiciar que os humanos portadores desta deficiência genética podem também ter risco aumentado de CU.

### **Genética e microbioma em interação**

Existem mutações genéticas que afetam o microbioma e predispõem à inflamação da mucosa intestinal (34). Seguidamente, são apontadas algumas das mais referidas atualmente.

A descoberta de uma mutação do gene domínio de oligomerização contendo a proteína 2 da ligação ao nucleótido (*NOD-2, nucleotide-binding oligomerization domain-containing*

*protein 2*) resultou numa mudança de paradigma face à etiologia da DII, levando a que esta deixasse de ser considerada como uma doença autoimune e passasse a ser encarada como uma imunodeficiência (6,11). O gene *NOD-2*, também denominado de recrutamento do domínio da caspase contendo proteína 15 (*CARD15, caspase recruitment domain-containing protein 15*), está localizado no cromossoma 16 (11) e é fator de risco para a DC mas não para a CU (34). Codifica um recetor intracelular que reconhece o muramil-dipeptídeo, um constituinte do peptidoglicano da parede celular das bactérias *Gram*-negativas e *Gram*-positivas (58). Quando o recetor identifica uma bactéria, ocorre ativação do fator de transcrição NF-κB nos macrófagos, que desencadeia a produção de citocinas pró-inflamatórias (34,59). Em indivíduos saudáveis, a ativação do NF-κB é modulada pelas bactérias comensais (46). Quando o gene *NOD-2* está mutado, aumenta a suscetibilidade para a DC ao diminuir a capacidade para reconhecer constituintes bacterianos, o que promove uma resposta imune inadequada (26). Esta suscetibilidade depende da carga genética, tendo os indivíduos heterozigóticos 2 a 4 vezes maior risco de desenvolver DC, aumentando para 20 a 40 vezes o risco nos homozigóticos (11).

Alguns doentes com DC têm também variantes dos genes de autofagia proteína 16-*like* 1 relacionada com a autofagia (*ATG16L1, autophagy related protein 16-like 1*), proteína M família GTPase relacionada com a imunidade (*IRGM, immunity-related GTPase family M protein*) (58), não-receptor tipo 2 da proteína tirosina fosfatase (*PTPN2, protein tyrosine phosphatase nonreceptor type 2*), cinase 2 de repetição rica em leucina (*LRRK2, leucine-rich repeat kinase 2*) e ativador da cinase 1 unc-51 como a autofagia (*ULK1, unc-51 like autophagy activating kinase 1*) (7), o que dificulta a eliminação de produtos de degradação celular, bem como de microrganismos patogénicos intracelulares como, por exemplo, a AIEC (58).

O gene *NOD-2* também interage com o gene de autofagia *ATG16L1* (58), recrutando o seu produto para o local de entrada das bactérias na membrana celular das células epiteliais do intestino (7,17,34). Se um dos genes estiver mutado, há um aumento da interação das bactérias com as células epiteliais pois o gene *ATG16L1* para a autofagia não é ativado.

O gene *XBP-1* (*X-box Binding Protein 1*) codifica uma proteína XBP-1 necessária à sobrevivência do retículo endoplasmático ao *stress*, em resposta a estímulos do SI. O retículo, quando sujeito a fatores de *stress*, provoca defeitos na produção de muco e aumento da suscetibilidade à inflamação intestinal (12,17). O déficit de XBP-1 pode também levar à apoptose das células de Paneth, essenciais à produção de defensinas, como já enunciámos (12).

Também os genes ligados à renovação e reparação epitelial, à resposta ao *stress* e à secreção de peptídeos antimicrobianos estão ligados à suscetibilidade para a DII (19).

Teoriza-se a hipótese de que a ação dos genes que enunciámos não seja independente ou aditiva, mas sim que haja uma interação entre os seus diferentes produtos, por vezes modificada por fatores epigenéticos, contribuindo todos para a mesma via comum, que culmina na inflamação intestinal (12).

### **O microbioma como elo fisiopatológico com outras patologias**

O microbioma também está implicado na fisiopatologia de outras doenças, podendo ser traçado um paralelo fisiopatológico com o que acontece na DII, nomeadamente no que se refere ao crescimento de espécies patogénicas, perda da diversidade microbiana e das respetivas funções inerentes, essenciais à manutenção da homeostasia (8). De entre essas patologias, destacam-se as doenças do foro metabólico, como a obesidade, a *diabetes mellitus* tipo 2 (19,35,55,60) e a síndrome metabólica (40), o cancro colo-rectal (23,39,60), a resposta pulmonar ao vírus *influenza* (19), a asma, a sinusite crónica, o autismo (8), a infeção por

*Clostridium difficile* (55,60), a aterosclerose (23), a enterocolite necrotizante, a dermatite atópica, alergias, doença hepática crónica (55) e a artrite psoriática (61).

No que respeita à relação do microbioma com a artrite psoriática, sabe-se que o perfil do microbioma intestinal destes doentes é semelhante ao encontrado na DII. Foi encontrada uma relação entre o estado inflamatório intestinal e articular, bem como um gene comum (*HLA-B27*) à DII e à artrite psoriática. Além disso, os doentes com artrite psoriática apresentam uma maior incidência de DII, e um terço dos doentes com DII têm sintomas articulares. Esta evidência levou à inclusão da artrite relacionada com a DII no espectro das espondiloartrites (61).

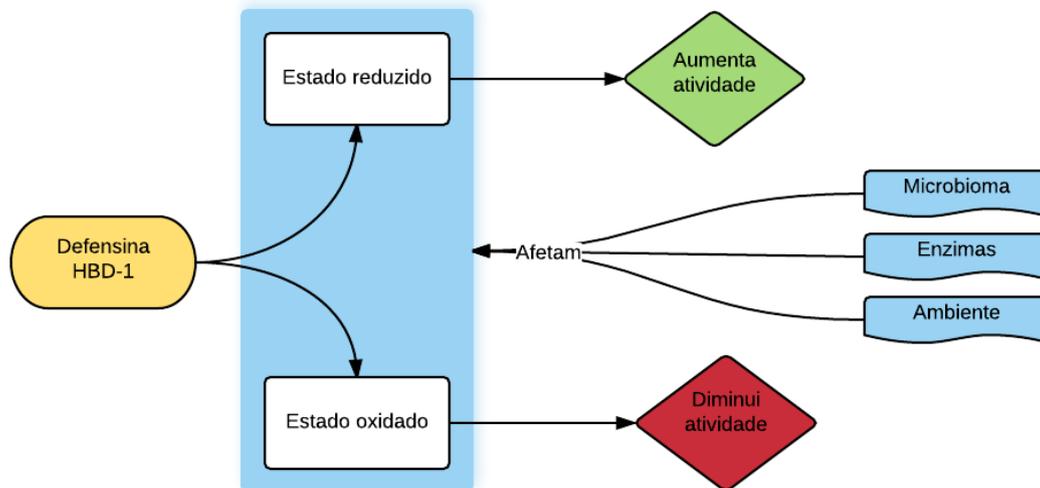
## INTERAÇÃO ENTRE O AMBIENTE E O MICROBIOMA

No âmbito da DII, várias são as evidências de que o ambiente e o microbioma concorrem para o desenvolvimento desta patologia através de interações com o SI (32). Genética, imunidade, dieta, idade, higiene, coabitação, tabaco, fármacos, canal de parto, geografia, todos interferem com o microbioma comensal, mas a importância relativa que cada fator desempenha na promoção da disbiose ainda tem de ser apurada (38). Segue-se uma pequena apresentação da forma como a idade, a imunidade, os fármacos, a dieta e a coabitação podem interagir com o microbioma comensal.

Quanto à influência da idade, sabe-se que a composição do microbioma não se mantém igual ao longo de toda a vida (18). Existem 3 picos de incidência da DII: 10, 15-30 e 60 anos, que correspondem, respetivamente, a três fases em que ocorrem alterações na estabilidade e diversidade do microbioma. Na primeira fase, o microbioma é mais simples e pouco estável, sendo afetado pelo canal de parto (38), como já foi explicado na seção “O Microbioma”. De facto, de acordo com um estudo de coorte (31), a aquisição do microbioma através de cesariana confere um aumento de 14% de suscetibilidade para o desenvolvimento da DII antes dos 36 anos, do que nascer por via vaginal. Na segunda fase, que corresponde à idade adulta, o microbioma torna-se mais estável mas também mais complexo. Por fim, na terceira fase, ocorre nova perda de estabilidade, conduzindo a um novo pico de incidência da DII (38). Pensa-se que a alteração do microbioma ao longo da vida poderá estar relacionada com alterações na dieta. Por exemplo, é comum os indivíduos idosos terem preferência por dietas ricas em açúcar e gordura, no sentido de aumentarem a intensidade dos sabores, como forma de colmatarem as perdas gustativas e olfativas associadas à idade (18).

Outro exemplo (Fig. 5) da interação ambiente-microbioma-imunidade é a defensina HBD-1. Esta defensina tem funções antimicrobianas contra o fungo *Candida albicans* e

contra os géneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (17) e a sua atividade aumenta quando está no estado reduzido (12,17). Ora o estado redox da mucosa pode ser influenciado por enzimas, pelo microbioma e por fatores ambientais (12), como o oxigénio (29).



**Figura 5:** Modulação da atividade da defensina HBD-1(12,17).

No campo das interações farmacológicas com o microbioma, a terapêutica antibiótica, usada para aumentar o peso dos animais utilizados para consumo humano provoca, em doses subterapêuticas, alterações nos microrganismos comensais do intestino do gado. Teorizou-se a hipótese de que também a exposição a antibióticos no recém-nascido pode provocar alterações no metabolismo dos microrganismos comensais e favorecer o aparecimento de DII nas crianças (9). Num estudo (62) efetuado em crianças com menos de 17 anos de idade, observou-se o aumento em 5,5 vezes do risco de desenvolvimento da DII com a toma do antibiótico amoxicilina, antes de 1 ano de idade e, a cada novo curso de antibioterapia, esse risco aumentava em 6%, com mais 1% por cada semana de exposição. Ainda neste estudo (62), o género feminino foi associado negativamente ao desenvolvimento de DII. Tal poderá ser explicado pelo maior número de infeções no género masculino, e o conseqüente uso aumentado de antibióticos neste grupo de pacientes (5).

Quanto à dieta, esta representa a maior fonte de carbono e azoto para o microbioma bacteriano, pelo que é um dos principais fatores a afetar a sua composição e função (8), quer promovendo, quer protegendo contra a inflamação intestinal (14). No bebé, a amamentação tem efeitos imunomoduladores reconhecidos, sendo que os anticorpos maternos secretados no leite são capazes de regular a composição do microbioma e promover a homeostasia intestinal (63).

No adulto, a dieta rica em hidratos de carbono, gordura e carne *versus* a dieta rica em fibras vegetais e hidratos de carbono simples, mostra alterações no microbioma dos seus consumidores. Na primeira aumentam os microrganismos resistentes à ação da bÍlis, diminuem os *Firmicutes*, responsáveis pelo auxílio à metabolização dos polissacarídeos dos vegetais (64), e aumentam os *Bacteroides*. Já na segunda, o género *Prevotella* é o predominante (18,23,64). O aumento da incidência da DII nos países desenvolvidos coincidiu com alterações marcadas na dieta, através da introdução de produtos de *fast food* e alimentos embalados (65), e o aumento nos países asiáticos coincidiu com a introdução do consumo de alimentos ricos em gordura e açúcar, semelhantes ao dos ocidentais, diminuindo o consumo de alimentos com probióticos fermentados naturalmente (66).

Ainda quanto à dieta, sabe-se que alterações na dieta a longo prazo têm efeito na composição do microbioma (64). Um estudo recente (64) concluiu que o mesmo acontece passado um dia de dietas baseadas em carne atingirem o cólon, revertendo a situação passado 2 dias de abandono dessa dieta. Já na dieta rica em fibras as alterações verificadas não foram tão radicais.

Abordando agora a partilha de ambientes comuns, sabe-se que a coabitação no mesmo lar influencia o microbioma intestinal. As pessoas que coabitam tendem a apresentar maiores semelhanças na composição do microbioma entre eles do que em relação aos indivíduos da

população em geral. Tal poderá ser devido não só à partilha de ambientes comuns como também às semelhanças genéticas (24). Um exemplo é o facto de os doentes com DII e seus contactos próximos em casa apresentarem disbiose e aumento da permeabilidade intestinal. Esta evidência levantou a suspeita de que os seres humanos são os principais vetores de transmissão dos patobiontes bacterianos. Quanto aos patobiontes víricos, a sua forma de transmissão ainda não foi investigada neste campo (39).

## A INOVAÇÃO TERAPÊUTICA NA DII: ANJOS OU DEMÓNIOS?

Face aos recentes avanços na compreensão do papel do microbioma na fisiopatologia da DII, a expectativa de inovações terapêuticas no âmbito desta patologia para os anos vindouros tornou-se real (6). Os objetivos dos novos tratamentos passam por reestabelecer um novo microbioma, semelhante ao dos indivíduos saudáveis (2,7), diminuir a inflamação e reverter as lesões tecidulares (39).

### Probióticos

Os probióticos são microrganismos vivos que, quando ingeridos, trazem benefícios para o hospedeiro (27). São capazes de sobreviver ao trânsito intestinal durante longos períodos (24). Como exemplos de probióticos podem-se enumerar bactérias dos géneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* (53) e das espécies *Saccharomyces boulardii* e *Escherichia coli* Nissle 1917 (24).

É importante compreender que os probióticos não são todos iguais e nem sempre têm efeitos aditivos ou sinérgicos. Não substituem a terapêutica convencional pois têm efeitos moderados, sendo mais vantajosos no tratamento da CU, e devem ser administrados *ad aeternum* pois não colonizam o intestino do adulto (60). São apontados como pouco úteis pois não sobrevivem num ambiente inflamatório (54) e existe a possibilidade do viroma poder interagir com eles, limitando ainda mais o seu valor terapêutico (39). Além disso, existe o risco de sépsis, infeções, desregulação do SI e resistência a antibióticos, pelo que devem ser usados com cautela em doentes imunodeprimidos ou com doença ativa severa (25).

Ainda assim, o género *Lactobacillus* poderá ter componentes na sua parede celular com propriedades anti-inflamatórias, com utilidade no tratamento da DII (24,29). Por exemplo, *Lactobacillus reuteri* mostrou 100% de resposta clínica e 31% de remissões no tratamento da CU moderada em crianças (32), *Lactobacillus acidophilus* tem a capacidade de

modular a dor no trato GI de ratos através da indução de receptores opioides e canabinoides (24) e *Lactobacillus rhamnosus* GG foi mais eficaz que a messalazina na manutenção da remissão da CU (2,25). No entanto, a espécie *Lactobacillus johnsonii* não mostrou eficácia na prevenção da recorrência da DC em remissão pós-cirurgia (7,25), e misturas de bactérias do gênero *Lactobacillus* não se mostraram eficazes no tratamento da CU (25).

Já o tratamento com VSL#3 (uma mistura de oito espécies de bactérias, que inclui quatro estirpes de *Lactobacillus*, três de *Bifidobacterium* e um de *Streptococcus thermophilus*) (27) mostrou eficácia na remissão da CU, sem quaisquer efeitos adversos (26,53,67), e na prevenção e manutenção da remissão na pouchite (25,32,50,54,68). Estas bactérias demonstraram serem capazes de estimular as células epiteliais a libertar  $\beta$ -defensinas e a aumentar a secreção de mucina (5).

Também o uso de *Escherichia coli* Nissle 1917 mostrou ser tão eficaz como a messalazina na remissão da CU (3), sendo também útil na manutenção da remissão da DC (7). Esta bactéria é capaz de contrariar as propriedades apoptóticas dos patobiontes contra as células epiteliais intestinais, e também de as estimular a libertar  $\beta$ -defensinas (5). Consegue facilmente sobreviver num ambiente pró-inflamatório, sendo capaz de captar eficazmente o ferro que necessita para o seu metabolismo (pouco disponível em ambientes inflamatórios devido ao seu sequestro pelo hospedeiro) e de utilizar azoto, produzido pelo hospedeiro, como parte da resposta inflamatória, como uma via respiratória alternativa (55).

Porém, dados de um estudo recente mostram que *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, apesar de diminuídos no intestino nas fases quiescentes da DII, aumentam nas fases ativas da doença, o que entra em conflito com dados de estudos anteriores, pelo que se conclui que o uso de probióticos nas fases ativas da DII deve ser feito com cautela. Ainda assim, os autores

propõem que as diferenças poderão ser explicadas pela população utilizada pertencer à região da China Central, onde a dieta é rica em fibra (53).

Recentemente, pensa-se na possibilidade de utilizar probióticos noutras doenças do trato GI, tais como a síndrome do cólon irritável, a diarreia do viajante (2,24), a úlcera péptica e a intolerância à lactose (24). É também colocada a hipótese de se produzirem probióticos geneticamente modificados, juntando-se as propriedades benéficas dos probióticos com as das bactérias comensais. Até ao momento, os resultados dos estudos são promissores, apontando para a viabilidade da utilização desta terapêutica em humanos (24). Pensa-se, também, em evoluir para a utilização dos chamados “probióticos de 2ª geração”, cuja escolha é baseada em mecanismos conhecidos para prevenção e tratamento de doenças específicas (55). Uma bactéria candidata a este uso é o *F. prausnitzii*, dadas as suas propriedades anti-inflamatórias, já demonstradas (55,69).

Em suma, vários são os desafios no que respeita ao encontro da dose ótima, modo e tempo de administração, e estirpe bacteriana a utilizar, no tratamento com probióticos (54).

### **Prébióticos**

Os prébióticos são oligossacarídeos não digeríveis no estômago que, ao serem fermentados no cólon, podem alterar a composição do microbioma (2,6). Originam SCFAs, após serem sujeitos à fermentação, que facilitam o controlo do metabolismo de hidratos de carbono e dos lípidos pelo fígado e a absorção de sódio, entre outros efeitos que lhes são imputáveis (14). Tal como os probióticos, também são apontados como pouco úteis pois não sobrevivem num ambiente inflamatório (9).

A cevada é um prébiotico rico em hemicelulose e glutamina, com eficácia no aumento do butirato fecal e na melhoria da atividade da CU, diminuindo as remissões da doença. O mesmo resultado foi obtido com a associação do estimulador de crescimento bifidogénico

(*BGS*, *bifidogenic growth stimulator*) à terapêutica convencional da CU. O *BGS* é um preparado prébiotico que contém 20% de soro de leite fermentado pela bactéria *Propionibacterium freudenreichii* ET-3 (25).

Estudos mais aprofundados são necessários nesta área, uma vez que o número de desistências dos participantes é elevado, devido aos efeitos secundários manifestados (26) como, por exemplo, a flatulência ou diarreia, que ocorrem devido à fermentação a que os prébioticos são sujeitos (14).

### **Transplante Fecal**

O transplante fecal envolve transferir o microbioma do intestino de um indivíduo saudável para um com doença, através de sonda nasogástrica, endoscopia digestiva alta, colonoscopia ou enema (8,37). Atualmente, recomenda-se o transplante de 50g de fezes, devendo o dador não ter feito antibioterapia nos últimos 3 meses, e o recetor cessar a antibioterapia 1 a 3 dias antes do transplante (8). O microbioma do doente passará a ser semelhante ao do dador, mas o tempo durante o qual essa parecença se mantém varia de caso para caso (37). Após transplante, há um aumento dos filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (27), que poderão reverter o processo inflamatório verificado na DII (37).

Vários estudos demonstraram que o transplante fecal é eficaz no tratamento da infeção por *Clostridium difficile* e na CU (26,70). Alguns estudos evidenciam a remissão da doença com este tratamento, outros apenas demonstram uma ligeira melhoria clínica. Para justificar esta falha terapêutica, são apontadas como explicações o facto de a disbiose poder ser apenas uma consequência da doença (logo os benefícios de reposição da eubiose com o transplante fecal não seriam máximos pois estaria a ser apenas tratada uma sequela da doença e não a causa), o microbioma estar a ser afetado por fatores ambientais, e os doentes não serem os candidatos ideais à terapêutica (2). Noutro estudo (71), não foi demonstrada eficácia do

transplante fecal administrado por sonda nasogástrica em doentes com CU leve a moderada, quer no grupo que obteve um transplante de dador saudável, quer um transplante autólogo, não tendo sido obtidas remissões clínicas ou endoscópicas estatisticamente significativas. Nos respondentes à terapêutica que receberam transplante de dador, o microbioma tornou-se semelhante ao do dador. Nos que responderam ao transplante autólogo, houve um aumento dos *Bacteroidetes*, *Bacilli* e *Proteobacteria*. Nos não respondentes de ambos os grupos não se verificaram alterações na composição do microbioma.

Todavia, num estudo muito recente (70), em que se testou a eficácia do transplante fecal administrado por enema *vs.* placebo numa população de 75 doentes com CU ativa, demonstrou-se que esta terapêutica é capaz de induzir a remissão da doença numa quantidade de doentes estatisticamente significativa, principalmente naqueles com um diagnóstico recente de CU. Pensa-se também que a eficácia do transplante dependa do microbioma intestinal do dador, o que poderá explicar porque é que alguns estudos falharam em demonstrar a eficácia desta terapêutica.

Num estudo que avaliou a viabilidade e segurança do transplante fecal administrado por enema durante 5 dias consecutivos em 10 crianças com CU estável, cujos dadores de fezes foram maioritariamente familiares em primeiro grau das mesmas, concluiu-se que é seguro e tolerável utilizar esta terapêutica, sendo eficaz em diminuir a atividade da doença (67). Não foram identificados efeitos secundários graves (por exemplo, sépsis), sendo os efeitos GI ligeiros a moderados e auto-limitados (8,67).

No entanto, são necessários mais estudos para eliminar as possibilidades teóricas de transmissão de infeções, carcinogénese, desenvolvimento de doenças autoimunes e doenças metabólicas (37), bem como compreender quais os componentes das fezes saudáveis mais eficazes no tratamento, no sentido de se desenvolverem fezes artificiais que possa ser usadas

em alternativa (26,37). Será também importante caracterizar os efeitos do transplante na inflamação da mucosa e no microbioma intestinal, selecionar a via ideal de administração do transplante, o tempo de tratamento, o dador e grau de parentesco necessário (67), o modo de conservação e processamento das fezes do dador (8,37), a preparação intestinal que deve ser feita antes da administração das fezes, o número de infusões necessárias, e o estado da doença em que a administração da terapêutica é mais eficaz (37). A determinação da região do trato GI mais afetada pela doença é importante dado que a composição bacteriana normal varia ao longo do trato GI, sendo também de considerar a idade de doentes e dadores, uma vez que a composição do microbioma varia de acordo com a fase da vida (8).

Num futuro próximo, espera-se perceber o efeito que este tratamento tem a longo prazo noutras doenças afetadas pela composição do microbioma intestinal, já enumeradas numa seção anterior deste trabalho (8,37).

### **Antibióticos**

Quanto ao uso de antibióticos no tratamento da DII, os dados mostram tanto o seu papel no desenvolvimento da doença como no tratamento (32,33), pois as alterações que provocam no microbioma tanto podem ir no sentido da disbiose como proteger quanto ao desenvolvimento da doença (1). Curiosamente, o risco associado ao tratamento com antibióticos tem uma relação inversa com o aumento da idade (62). Tal poderá dever-se ao facto de o microbioma se tornar mais estável e diverso à medida que se atinge a idade adulta (54).

Os antibióticos habitualmente utilizados no tratamento da DII, têm risco de reações adversas medicamentosas, tais como o desenvolvimento de resistências (porque não se sabe quais as bactérias efetivamente responsáveis pela DII), a infeção por *Clostridium difficile*, e efeitos inespecíficos contra o microbioma comensal (7,25), havendo estudos que mostram

uma disbiose mais marcada nos casos em que houve exposição a estes fármacos (56). No entanto, melhoram a DII porque diminuem o número de bactérias (6), mas a sua eficácia não é total pois não diminuem a inflamação simultaneamente (9). Poderão sim diminuir a inflamação em curtos períodos de tempo indiretamente, ao diminuírem o número de patobiontes disponíveis para desencadear inflamação mas, ao mesmo tempo, podem aumentar o número de infeções intestinais pois diminuem a espessura da camada mucosa protetora (38).

Concluiu-se então que os antibióticos seriam mais indicados para tratamento em subgrupos de doentes em estádios precoces da DII, e cujo cólon estivesse afetado. A ação destes fármacos seria benéfica devido à maior concentração das bactérias nesta zona do trato GI (33).

Ainda assim, globalmente, há mais melhorias na DC com o uso de antibióticos, havendo poucos estudos no campo da CU, na sua generalidade indicando que a antibioterapia não provoca nem aumento dos sintomas nem das remissões nesta última (32).

No que respeita ao papel dos antibióticos na DC propriamente dita, estudos muito heterogéneos não permitem tirar conclusões sobre o potencial que estes fármacos têm na remissão da doença, exceto na doença perianal. Nesta última, os antibióticos ciprofloxacina e metronidazol são considerados o tratamento adequado a melhoria das fístulas perianais (definindo-se melhoria como uma diminuição de pelo menos 50% no número de fístulas ativas e drenantes), e o seu uso concomitante com azatioprina ou infliximab melhoram a resposta terapêutica (32). Um estudo recente (72) mostrou que o tratamento com 800mg 2id de rifaximina em formulação gastrorresistente, durante 3 meses, é capaz de provocar e remissão da DC moderadamente ativa, melhorando significativamente a dor abdominal. A rifaximina é recomendada no tratamento de longa duração porque é um antibiótico sem ação sistémica, uma vez que não é absorvido, diminuindo assim as reações adversas

medicamentosas (33). Os efeitos são mais marcados nos doentes com diagnóstico mais recente e com doença limitada ao cólon, o que poderá ser devido à maior concentração bacteriana que se verifica nesta zona do trato GI (72).

Estes dados são um ponto a favor do potencial dos antibióticos no tratamento da DC (72). Em relação às exacerbações da DC, os dados disponíveis são escassos, mas a antibioterapia parece ser eficaz em evitá-las (32).

Quanto à necessidade de antibioterapia pós-operatória para tratamento da DC, é reconhecida utilidade a estes fármacos, uma vez que diminuem o crescimento bacteriano no lúmen do intestino, além de diminuírem a dor e a diarreia. Esta necessidade de suprimir o crescimento bacteriano prende-se com o aumento do número de bactérias que se observa pós-resseção intestinal, bactérias essas que parecem ser responsáveis pela recorrência da doença. (32).

Atualmente, e em resumo, quanto à DC, os antibióticos não são recomendados para o tratamento da doença ativa. São reservados para casos com doença perianal ou complicações sépticas (43).

A antibioterapia com ciprofloxacina ou rifaximina está também recomendada no tratamento das pouchites. (32). No entanto, um estudo recente (51) mostrou que a terapêutica antibiótica provocava nos doentes com pouchites a diminuição de vários taxa protetores e aumento das *Enterobacteriaceae*, mas que a terapêutica biológica ou os imunomoduladores não o faziam, sugerindo que talvez a antibioterapia não seja um tratamento benéfico a longo prazo, nestes doentes.

Quanto ao uso da antibioterapia em infeções específicas, testou-se a utilidade da ciprofloxacina e claritromicina no tratamento da infeção por AIEC, uma vez que estes fármacos têm a capacidade de penetrar nos macrófagos. Porém, não se verificaram diferenças

estatisticamente significativas entre o uso destes antibióticos e o placebo no tratamento da infeção (33).

### **Outras possibilidades terapêuticas**

Intervenções dietéticas: de entre os fatores ambientais, o microbioma e a dieta afiguram-se como os alvos de mais fácil modificação no sentido da prevenção e tratamento (14). Seguidamente, apresentam-se algumas estratégias inovadoras neste âmbito.

Nutrição entérica exclusiva, com dieta de fórmula elementar, semi-elementar e polimérica, é capaz de provocar a remissão da DC. É considerada em alguns países como terapia de primeira linha para a DC e poderá servir para se identificar a dieta adequada para os doentes com DII (23). De facto, os doentes com DII apresentam défices nutricionais devido à má absorção pelo que a suplementação nutricional é uma abordagem benéfica (5), principalmente em doentes pediátricos com DC ativa (73). No entanto, o mecanismo pela qual esta dieta é benéfica ainda não está completamente esclarecido. Como hipóteses, aponta-se que a diminuição da gordura poderá ser eficaz, que a nutrição e o aporte calórico são melhorados, que afeta positivamente o microbioma e que a forma física da dieta afeta os mecanismos de digestão e absorção dos alimentos. Além disso, os seus benefícios poderão ser devidos não só à evicção de poluentes e aditivos alimentares contidos em muitos alimentos mas também à dieta baseada em aminoácidos, que permite fornecer adequadamente os que estão em défice (14) e tem uma menor antigenicidade (73). No entanto, em relação a este último ponto, existem dados contraditórios. Num estudo (73), não foram encontradas diferenças na indução da remissão quando comparada a dieta baseada em aminoácidos com a dieta baseada em proteínas. Noutro estudo (5), afirma-se que dietas contendo apenas aminoácidos e não as proteínas completas provocaram a remissão da DC.

Poderá também usar-se terapia na DC com ácidos gordos ómega-3 de cadeia longa, nomeadamente com o ácido docosahexaenoico, devido às suas propriedades anti-inflamatórias. Essas englobam diminuir a produção de leucotrienos e prostaglandinas pró-inflamatórias, inibir a via do NF- $\kappa$ B (59,74), e alterar o recrutamento de macrófagos. Pensa-se também que seja capaz de alterar a composição do microbioma intestinal, uma vez que o leite materno é rico em ácidos gordos ómega-3 (59) e o género *Bifidobacterium* está aumentado nas crianças amamentadas (23,59).

Ainda quanto às intervenções dietéticas, a dieta específica em hidratos de carbono teve resultados muito positivos na melhoria da sintomatologia da DII, em especial na DC, permitindo em alguns casos o abandono da terapêutica imunossupressora. Esta dieta é predominantemente composta por monossacarídeos, fruta, nozes, proteínas e gordura, excluindo os di e polissacarídeos. Surgiu devido à hipótese de que os doentes com DII apenas conseguem absorver glicose, frutose e galactose devido a uma disfunção das dissacaridases, tendo assim uma malabsorção dos outros açúcares (75).

Já a dieta paleolítica, baseada no consumo de carne de animais não domésticos, vegetais e fruta, pretende aumentar o consumo de ácidos gordos polinsaturados (PUFA, *polyunsaturated fatty acids*)  $\Omega$ -3 e diminuir o de  $\Omega$ -6. No entanto, pouca evidência existe a favor do impacto positivo desta dieta na DII (14).

#### Intervenções enzimáticas:

Usar a inibição do proteassoma como terapia para a DII. O fármaco bortezomib foi o primeiro inibidor do proteassoma a ser desenvolvido para o tratamento de doenças oncológicas, mas poderá ser útil na DII (46). Ainda neste campo, poderão desenvolver-se novos fármacos contra as proteases das bactérias, seus transportadores e PARs. Como alternativa, poderão utilizar-se probióticos que produzam inibidores das proteases ou

proteases benéficas para o hospedeiro. Por exemplo, o *Bifidobacterium longum* e o *Bifidobacterium breve* produzem inibidores da serina protease e a *Saccharomyces boulardii* produz uma serina protease contra a aderência da *Clostridium difficile* ao epitélio (47), o que se coaduna com a ideia desenvolvida noutro estudo, onde se pensa em bloquear a aderência das bactérias ao epitélio, recorrendo à inibição de determinados componentes bacterianos ou à ajuda de probióticos (26).

Ainda no campo enzimático, poderão utilizar-se enzimas antioxidantes no tratamento da DII, tais como a superóxido dismutase e a catalase, cujas propriedades inibem o recrutamento de neutrófilos (24). Também a suplementação com fosfatase alcalina exógena se afigura como uma terapêutica benéfica na DII, graças às suas propriedades anti-inflamatórias e reguladoras da homeostasia intestinal. Existem já dados que demonstram a sua eficácia em diminuir a inflamação em ratos com colite (49).

## FATORES DE RISCO AMBIENTAIS

Ainda que o principal foco de estudo no âmbito da fisiopatologia da DII na última década tenha estado voltado para o microbioma (o chamado “*in-vironment*”) (6), a pesquisa de agentes do ambiente externo responsáveis pelo desenvolvimento da doença não diminuiu de importância.

A hipótese do papel do ambiente na fisiopatologia da doença é colocada com base nas evidências epidemiológicas da distribuição global da doença (68). A DII tem um predomínio nos países desenvolvidos mas está a aumentar nos países em desenvolvimento, à medida que se tornam industrializados (4). Sabe-se também que o ambiente terá um maior impacto na fisiopatologia da CU face à DC, uma vez que a concordância entre gémeos monozigóticos é menor nos casos de CU do que na DC (37,42,52,69,76).

O estilo de vida moderno é considerado um perturbador da homeostasia do microbioma intestinal. A melhoria das condições de higiene, a diminuição dos elementos das famílias, as vacinas, a diminuição das parasitoses, a refrigeração e processamento dos alimentos, o sedentarismo, as cesarianas, o aumento do uso de antibióticos, a diminuição da infeção por *H. pylori* e as mudanças da dieta foram apontados como os principais culpados (23).

A explicação da forma como estes elementos concorrem para a DII e, em particular, a sua interação com o microbioma, tem vindo a ser explorada ao longo deste trabalho de revisão. Seguidamente, são apresentadas outras hipóteses de como estes fatores poderão contribuir para a fisiopatologia da DII.

## **FATORES DE RISCO NÃO MODIFICÁVEIS**

### **GEOGRAFIA E SOCIEDADE**

#### **Geografia**

As áreas com maior incidência da DII são a América do Norte, Europa do Norte, Austrália e Nova Zelândia, estando a aumentar na Ásia (77).

Verifica-se um gradiente norte-sul na prevalência da DII na Europa, apesar de estar a tornar-se mais atenuado (78), o que poderá ser explicado pela menor exposição solar nos países do norte e a consequente menor produção de vitamina D (77) (fisiopatologia explicada no tópico “Dieta – Micronutrientes”), pelo aumento de mutações do gene *NOD-2* na Europa Central, e pela dieta potencialmente protetora (rica em vegetais, fruta, azeite e vinho) dos países do sul (66). Ainda quanto ao impacto da exposição solar, sabe-se também que a exposição à radiação ultravioleta induz imunossupressão (79), o que poderá ser vantajoso em doenças com ativação anormal do SI, como é o caso da DII (24). Dados de um estudo francês (79), mostraram uma relação entre áreas com baixa exposição solar (norte de França) e uma maior incidência da DC, mostrando novamente a existência de um gradiente norte-sul para esta doença na França. Parece, então, existir um limiar de exposição solar abaixo do qual a incidência da DC aumenta, e que deve ser determinado no futuro. Quanto à CU, não foi encontrada associação entre a exposição solar e esta doença.

Também na Europa, existe um gradiente oeste-este da doença, com incidência duas vezes superior nos países do oeste face aos de este. No entanto, nas últimas duas décadas, o estilo de vida da população do este passou a ser mais ocidental, o que poderá explicar o aumento da incidência da DII nestes países (80). Face a esta evidência, um estudo (80) procurou comparar as populações com DII destas duas áreas geográficas e concluiu que apesar das diferenças observadas não era possível explicar o gradiente observado, pois a

população do este exibia maior ocorrência dos fatores de risco ambientais suspeitados como promotores da DII. Tais fatores serão explorados ao longo dos próximos capítulos.

### **Migrações**

O risco de desenvolvimento de DII aumenta quando o indivíduo muda de um meio economicamente pouco desenvolvido para um desenvolvido e é tanto maior quanto mais jovem for a pessoa (60,69). Após uma ou duas gerações o risco para o desenvolvimento da DII passa a ser igual ao do país de destino (23,81). No mesmo país, as diversidades étnicas podem também explicar diferenças na suscetibilidade genética e nas escolhas para a dieta (65).

Neste âmbito, um estudo recente (82) comparou a influência dos fatores ambientais numa população de imigrantes provenientes do Médio Oriente (zona onde a DII é pouco prevalente) para a Austrália *versus* a população caucasiana australiana local com DII, e obteve resultados curiosos. O tabaco aumentou o risco de DC em ambas as populações e diminuiu o risco na CU apenas nos caucasianos. O uso de antibióticos, aumentava o risco de DII nos caucasianos mas diminuía-o na população do Médio Oriente, o que levou os autores a teorizar que o uso de antibióticos pudesse ser um marcador indireto de gastroenterites, frequentes naquela região, e que estas fossem capazes de aumentar a diversidade do microbioma intestinal, protegendo contra a doença. A higiene diminui o risco de DII na população do Médio Oriente e a apendicectomia aumenta. Curiosamente, estes dois fatores de risco não apresentaram significância estatística nos caucasianos. Por fim, a amamentação por mais de 6 meses evidenciou-se como um fator protetor para a DII em ambas as populações.

No entanto, estes estudos também têm limitações que não devem ser ignoradas. Geralmente as populações de países em desenvolvimento têm menor educação para a saúde, o que poderá diminuir a procura por cuidados de saúde e a oportunidade para diagnóstico de

DII, diminuindo conseqüentemente a prevalência da doença no país de origem. Também as diferenças étnicas podem tornar difícil a identificação de fatores de risco de natureza verdadeiramente ambiental, mas também elas merecem investigação no impacto que têm individualmente na DII (83).

### **Hipótese da Higiene**

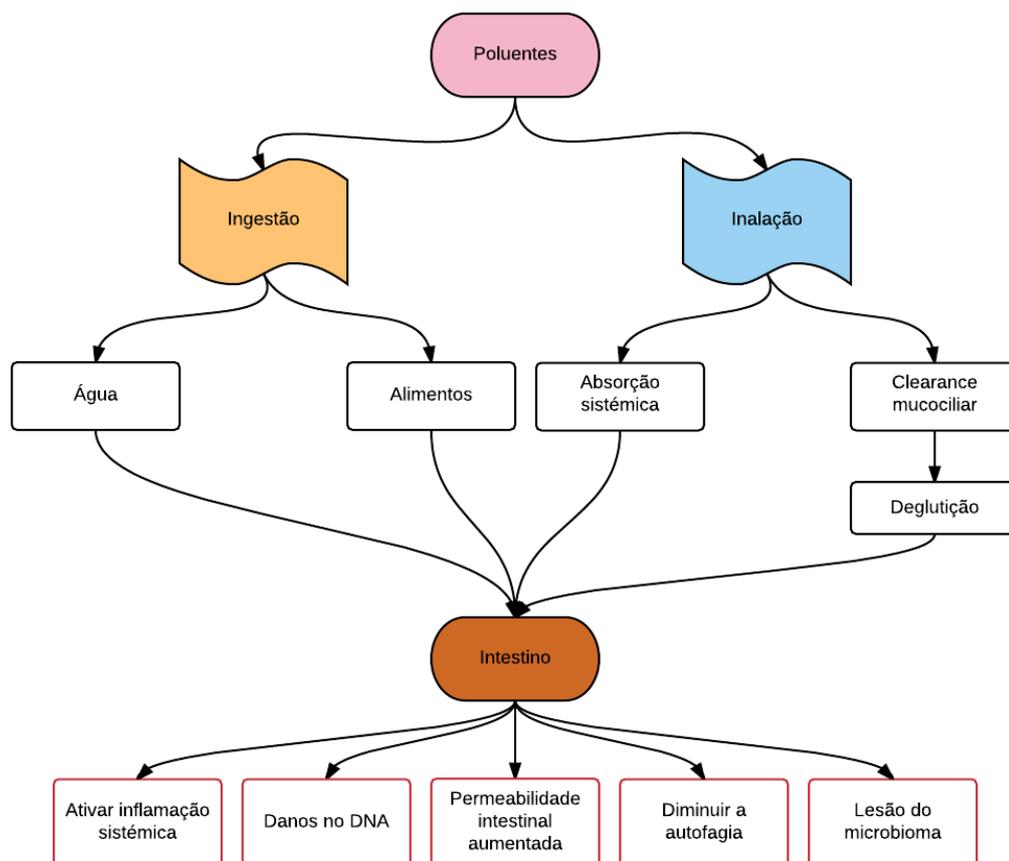
Teoriza que a melhoria das condições sanitárias diminui a exposição a factores ambientais e microbianos. Conseqüentemente, o SI não é adequadamente estimulado, desencadeando respostas imunes inadequadas (5,13,23). Esta hipótese sugere que um microbioma saudável tem um efeito protetor face a patologias com componente imunitário marcado, como é o caso da asma, alergias e DII (24).

Um estudo espanhol (84), mostrou que graus académicos e sociais mais elevados, e morar em áreas urbanas, estão relacionados com aumento de risco tanto para DC como para a CU, enquanto que gastroenterites e infeções respiratórias durante a infância apresentaram um efeito protetor em ambas as patologias. Tais evidências são a favor da hipótese da higiene. Os mesmos resultados foram obtidos num estudo (62) realizado numa população pediátrica residente no Reino Unido.

Porém, dados de um estudo dinamarquês (85), e de outro, canadiano, citados por KoY. (82) não mostraram evidências a favor desta hipótese. Utilizaram como marcador de boas condições sanitárias, respetivamente, o acesso a água canalizada e a água quente, praticamente ubiqüitárias nos dias de hoje. Este método não será um dos mais apropriados para avaliar a higiene, o que poderá explicar os resultados destes estudos.

## POLUIÇÃO DO AR AMBIENTE

O mecanismo pela qual a poluição influencia a fisiopatologia da DII ainda é desconhecido (86). Os poluentes podem atingir o trato GI diretamente, através da ingestão de alimentos e água contaminados, ou indiretamente, através da inalação das partículas que são absorvidas sistemicamente e atingem o intestino pelo sistema circulatório ou, então, que são expulsas do sistema respiratório pela *clearance* mucociliar, sendo depois deglutidas. Pensa-se que os poluentes poderão aumentar a permeabilidade da barreira intestinal, causar danos no ADN das células, ativar as vias inflamatórias sistêmicas (principalmente nos geneticamente predispostos, como na DII), diminuir a ação do mecanismo protetor da autofagia ou lesar diretamente o microbioma (87). Na Fig. 6 está representado este mecanismo.



**Figura 6:** Provável efeito fisiopatológico dos poluentes na DII (87).

Sabe-se que pessoas que vivem em áreas com maior concentração de dióxido de azoto têm maior risco para desenvolver DC. As que vivem em áreas com elevado dióxido de enxofre têm risco aumentado de CU. No entanto, noutro estudo, o dióxido de azoto foi associado negativamente à DC. A explicação fisiopatológica para estas disparidades ainda não foi clarificada (86). O incremento das emissões poluentes totais (monóxido de carbono, óxido nítrico, dióxido de enxofre, compostos orgânicos voláteis e material particulado com tamanho  $<2,5\mu$ ) foi associado ao aumento em 40% das hospitalizações por DII no estado de Wisconsin, nos Estados Unidos da América, influenciando de forma semelhante a DC e a CU, principalmente em mulheres, e nos indivíduos com mais de 45 anos (88), sugerindo o papel do ambiente não só como fator de risco mas também como capaz de influenciar a doença já estabelecida (81). O mesmo estudo (88) encontrou correlações semelhantes entre a poluição, a asma e a esclerose múltipla, outras duas doenças imunologicamente mediadas, o que levou os autores a teorizar que os poluentes aéreos desencadeiam uma resposta inflamatória sistémica, responsável pelas exacerbações da DII. Tal vai de encontro ao mecanismo proposto na Fig. 6.

Concluindo, é necessário ter em conta os parâmetros individuais da doença (88), bem como replicar os resultados em diferentes regiões geográficas (81), usando modelos animais para avaliar os mecanismos fisiopatológicos, e não ignorando as exposições individuais e a longo prazo a cada poluente (87), para se concluir da existência de uma relação direta entre a DII e a poluição do ar.

## EXPOSIÇÕES PRÉ-NATAIS E NA INFÂNCIA

O período perinatal corresponde à fase de desenvolvimento inicial do microbioma e SI, pelo que as alterações patogénicas verificadas na DII poderão ser devidas a exposições a vários fatores de risco ambientais durante a infância (78).

De acordo com uma revisão sistemática (78), que fez o levantamento da exposição a vários fatores de risco durante o período pré-natal e infância, a ocorrência de doença materna durante a gravidez foi associada ao aumento do risco de desenvolvimento de CU nesse feto. A idade materna superior a 35 anos, e o consumo de tabaco durante a gravidez, foram identificados como fatores de risco para o desenvolvimento de DC. A cesariana, ao contrário do que é exposto nos capítulos “O Microbioma” e “Interação entre o ambiente e o microbioma”, parece ser protetora para o desenvolvimento da DII, assim como a amamentação. No que respeita ao período após o nascimento, a partilha de quarto com terceiros aumenta o risco de DII, o que contraria a hipótese da higiene. Uma casa com muitos habitantes e uso de toalhas de banho pessoais são fatores encontrados como protetores da DC, apoiando a hipótese da falta de higiene neste caso. Quanto à poluição do ar, áreas com maior concentração de dióxido de azoto desencadeiam maior risco para desenvolver DC nos doentes com menos de 23 anos, e as que vivem em áreas com elevado dióxido de enxofre têm risco aumentado de CU nos doentes com mais de 25 anos. Também a exposição passiva ao fumo do tabaco foi associada ao risco de desenvolvimento de DII num estudo, e noutra apenas à DC. Quanto às infeções, estas aumentam o risco de DC dos 5 aos 10 anos. As gastroenterites, incluindo as por *Salmonella* e *Campylobacter*, e o uso de antibioterapia após as mesmas aumentam o risco de DII. A antibioterapia no primeiro ano de vida é fator de risco para DII. Por fim, a apendicectomia revelou-se protetora para a CU.

Dados de um outro estudo (63) sobre a população adulta americana com DII comprovam o efeito protetor da amamentação na DC, e o consumo de tabaco materno como fator de aumento do risco para cirurgia futura. Em relação à CU, não foram encontradas exposições infantis que influenciassem o desenvolvimento futuro da doença. Noutro estudo (85), desta vez na população dinamarquesa, os resultados obtidos quanto à amamentação indicam que é protetora para a DII, mas num estudo realizado em italianos (30) não foi encontrada relação da DII com a amamentação.

Quanto à relação entre o mês de nascimento e o risco de desenvolver doença, um estudo realizado na população coreana (89) mostrou uma associação significativa entre o nascimento no inverno e o desenvolvimento de DII, especialmente na CU. Os resultados do estudo assemelham-se aos obtidos num outro realizado sobre a população israelita, mas diferem dos realizados nas populações ocidentais, o que pode refletir diferenças geográficas e/ou genéticas. Para explicar este resultado, os autores teorizaram que a exposição a fatores ambientais, com variação sazonal, durante o período pré e pós parto, aumenta a suscetibilidade à DII durante o inverno devido ao aumento dos corticoides da suprarrenal que, em resposta aos fatores stressantes do inverno, comprometem a função imune devido às suas propriedades imunossupressoras.

Porém, num estudo de coorte (90), não foram encontradas associações entre a DII e o parto pré-termo, o peso ao nascimento ou a amamentação. Foi, sim, encontrada uma associação entre a diabetes gestacional e o risco para DC.

Na Tabela 4 estão resumidos os principais resultados dos estudos supramencionados.

**Tabela 4:** Efeito na DII, DC e CU da exposição a determinados fatores no período pré-natal, pós natal e infância (30,63,78,85,89,90)

		Efeito		
	Exposição/Fator	DII	DC	CU
Pré-natal	Doença materna durante a gravidez (78)			↑
	Idade materna >35 anos (78)		↑	
	Tabagismo durante a gravidez (63,78)		↑/↑	
	Diabetes gestacional durante a gravidez (90)		↑	
	Parto pré-termo (90)	—		
	Parto por cesariana (78)	↓		
	Nascimento no Inverno (89)	↑	↑	↑↑
	Peso ao nascimento (90)	—		
	Amamentação (30,63,78,85,90)	↓/↓/_/_		↓
	Antibioterapia no 1º ano de vida (78)	↑		
Pós-natal e infância	Antibioterapia 6 meses antes do diagnóstico de DC (78)		↑	
	Partilha de quarto (78)	↑		
	Casa com muitos habitantes (78)		↓	
	Toalhas de banho pessoais (78)		↓	
	Elevada concentração de dióxido de azoto (78)		↑	
	Elevada concentração de dióxido de enxofre (78)			↑
	Exposição passiva ao fumo do tabaco (78)	↑	↑	
	Infeções (78)		↑	
	Gastroenterites (78)	↑		
	Gastroenterites tratadas com antibioterapia (78)	↑		
Apendicectomia (78)			↓	

**Legenda:** ↑ - aumenta o risco; ↓ - diminui o risco; — - não encontrada associação DII – Doença inflamatória intestinal; DC – Doença de Crohn; CU – Colite ulcerosa.

## FATORES DE RISCO MODIFICÁVEIS

### DIETA

Os antígenos dos produtos alimentares são os mais comuns no lúmen intestinal, em conjunto com os do microbioma, pelo que se compreende o impacto que a dieta poderá ter na fisiopatologia da DII. Como mecanismos fisiopatológicos prováveis pensa-se que os componentes da dieta poderão modular a inflamação, alterar a permeabilidade intestinal e a expressão genética, e interferir com o microbioma (73), alterando a sua composição e servindo de substrato para o metabolismo dos microrganismos (23). Seguidamente, descreve-se a forma como alguns factores dietéticos contribuem para a DII.

#### **Micronutrientes**

Água: o consumo de água canalizada é encarado como protetor para a DC, mesmo havendo a possibilidade de existirem microrganismos na água (5). No entanto, se os níveis de ferro na água estiverem elevados, o *stress* oxidativo aumenta, levando à inflamação e crescimento bacteriano, o que poderá ter impacto na DII (44,65).

Vitamina D: desempenha um papel importante na manutenção da homeostasia GI através da mediação de interações entre o microbioma e o SI (56), contribuindo também para a regulação da permeabilidade e integridade do epitélio intestinal (77). Tem propriedades anti-inflamatórias e reguladoras da imunidade inata, como a capacidade de indução da transcrição do gene *NOD-2* (77) e a capacidade de induzir uma mudança da diferenciação Th1 e Th17 (implicadas na fisiopatologia da DC) para Treg, quando convertida na sua forma ativa. Em modelos experimentais, estas propriedades imunológicas foram implicadas na fisiopatologia de outras doenças imunomediadas (76), como na esclerose múltipla (77).

O déficit de vitamina D sérica é comum nos doentes com DII (14,91) e foi relacionado com o aumento de hospitalizações e cirurgias, tanto na DC como na CU. Uma associação inversa entre o consumo dietético elevado desta vitamina e o risco de CU também foi demonstrado (76,92). Noutro estudo (91), os níveis de vitamina D durante o período de inverno e primavera mostraram-se insuficientes (<30ng/mL), mesmo nos doentes a fazer a suplementação oral diária de 800 UI de vitamina D, e foram associados a pior qualidade de vida relacionada com a saúde, tanto na DC como na CU. A qualidade de vida relacionada com a saúde foi avaliada utilizando o questionário “*short inflammatory bowel disease questionnaire*”. A melhor qualidade de vida relacionada com a saúde coincidiu com valores de vitamina D sérica superiores a 50ng/mL, o que poderá constituir o valor de objetivo terapêutico na suplementação com esta vitamina. Estes resultados reforçam a hipótese de que níveis baixos de vitamina D poderão estar relacionados com o aumento da atividade da doença, bem como que a dose atualmente recomendada de suplemento não é a adequada.

Face à evidência anterior, compreende-se a necessidade de manter uma dose ótima de vitamina D sérica nos doentes com DII. Porém, esta ainda não foi identificada (93). Baseando-se nas recomendações em como a dose sérica ideal de 25-hidroxi-vitamina D deve ser superior a 32ng/mL para a manutenção da saúde óssea, um estudo (93) procurou quantificar a dose oral de vitamina D diária capaz de manter esta concentração ótima na população pediátrica com DII. Concluíram que a dose de 2000 UI de vitamina D, apesar de bem tolerada, não era suficiente para manter os níveis de 25-hidroxi-vitamina D séricos dentro dos valores recomendados. Ainda assim, nos grupos que receberam doses mais elevadas de vitamina D, os valores de IL-6, uma citocina implicada na inflamação da DII, estavam mais baixos. Assim, recomendam a realização de estudos com maiores amostras e doses, no sentido de atingir o objetivo proposto e avaliar o impacto na inflamação.

Porém, apesar de já ter sido demonstrado que a DC tende a melhorar no outono (89) e a recidivar nos meses de Inverno, coincidindo com níveis baixos de vitamina D encontrados nesses doentes, dados de um estudo neozelandês (94) não mostraram correlação significativa entre a atividade da DC e os níveis sazonais séricos desta vitamina. Tal poderá ter-se devido à amostra em estudo ser pequena e este tratar-se de um estudo observacional.

Os níveis baixos desta vitamina encontrados na DII poderão também ser apenas uma consequência da doença devido à diminuição da atividade física e da consequente exposição solar que o exercício propicia, à dieta pobre em vitamina D (77) ou à má absorção, daí que se torne difícil perceber se os seus níveis baixos serão uma causa ou consequência da DII (76,94).

Enxofre: o enxofre é um mineral contido em vários componentes da dieta como, por exemplo, nos aminoácidos sulfatados. Este mineral pode ser tóxico para as células do cólon, pois é metabolizado a ácido sulfídrico ( $H_2S$ ), uma molécula capaz de provocar apoptose, ulceração da mucosa e perda das células caliciformes. Foi encontrada uma associação positiva entre o consumo de alimentos contendo aminoácidos sulfatados e as exacerbações da CU (1), o que não nos surpreende face aos efeitos deletérios sobre a mucosa intestinal dos seus metabolitos.

### **Macronutrientes**

Fibras: o seu consumo em elevadas quantidades provoca o aumento do volume e conteúdo bacteriano das fezes (14). Num estudo (85), encontramos que o seu consumo é protetor para ambas as patologias, e noutros (13,92) que apenas é protetor para a DC, não tendo efeitos na CU, o que contradiz os achados do primeiro estudo. Tal não permite tirar conclusões definitivas sobre o papel das fibras na DII (68).

Proteínas: dietas elevadas em proteínas, particularmente as de origem animal, estão associadas ao risco de DII e à sua recorrência (44).

PUFA  $\Omega$ -3 de cadeia longa: neste grupo destacam-se como elementos importantes o ácido docosahexaenoico e o ácido eicosapentanoico (74). O seu metabolismo gera moléculas anti-inflamatórias, como lipoxinas e prostaciclina. Têm efeitos protetores na CU (74) e na DC, sendo que em relação a esta última, um estudo (74) demonstrou uma correlação inversa entre esta doença e o consumo de ácido docosahexaenoico (cujos efeitos anti-inflamatórios foram explanados na secção “Outras possibilidades terapêuticas”). Quanto ao ácido eicosapentanoico, o mesmo estudo (74) não encontrou nenhuma relação estatisticamente significativa com a DC, o que é surpreendente, dado que este ácido tem propriedades anti-inflamatórias semelhantes às do docosahexaenoico. Concluiu-se que seria necessária mais investigação sobre esta problemática.

PUFA  $\Omega$ -6: estão presentes em maior quantidade na margarina, óleos alimentares e carnes vermelhas (14). O seu metabolismo gera moléculas pró-inflamatórias, como o tromboxano, as prostaglandinas e os leucotrienos (44). O ácido linoleico, o principal PUFA deste tipo na dieta, foi mostrado como fator predisponente à CU (13,14). Este ácido é metabolizado em ácido araquidónico, uma molécula com propriedades pró-inflamatórias, tendo sido encontrada em quantidades aumentadas na mucosa intestinal destes doentes (5).

Hidratos de carbono: foram relacionados com aumento da DC e da CU (13,68,85), o que pode significar que o açúcar está relacionado com a fisiopatologia da doença ou que estes doentes consomem muito açúcar na tentativa de aliviar sintomas. Todavia, quando se diminuiu o seu consumo, poucas alterações ocorreram no estado da doença (5).

## **Grupos alimentares**

Fruta e vegetais: quando consumidos em quantidades elevadas, diminuem o risco de DC e CU (68).

Carne: é a fonte principal de heme e de PUFA  $\Omega$ -6. A degradação do heme gera ferro, bilirrubina e monóxido de carbono, sendo que estes dois últimos compostos são capazes de diminuir as citocinas pró-inflamatórias e o *stress* oxidativo. Já com o ferro pode-se estabelecer um paralelismo com o que ocorre na água com elevados níveis deste íon. Face a estas evidências contraditórias, são necessários mais estudos para compreender o papel do heme na DII.

A carne é também o veículo para a transmissão de infeções que poderão contribuir para a DII. A hipótese da cadeia do frio enuncia que bactérias patogénicas como a *Yersinia* podem sobreviver à congelação, levando à DC como resultado da ativação permanente do NF- $\kappa$ B nos doentes com mutação no *NOD-2* (44). A favor desta hipótese verificamos que a DC aumentou quando foi introduzida a refrigeração (65). A mesma associação à transmissão de infeções acontece com a carne de porco mal passada e produtos não pasteurizados, também demonstrados como fatores predisponentes para a DC (5).

Peixe: num estudo, encontramos que é protetor para a DII (5), sendo uma fonte de PUFA  $\Omega$ -3, o que poderá explicar este efeito (44). Noutro é responsável pelo aumento do risco da CU (13).

## **Padrões alimentares**

As evidências acumulam-se quanto à importância dos padrões da dieta no risco de desenvolver a doença, ao invés da influência individual de cada alimento (13). Os nutrientes consumidos numa refeição interagem uns com os outros de forma sinérgica ou antagónica, daí

que a análise dos padrões dietéticos poderá ajudar a prever mais eficazmente o risco de desenvolvimento de DII (68).

### **Intolerâncias alimentares**

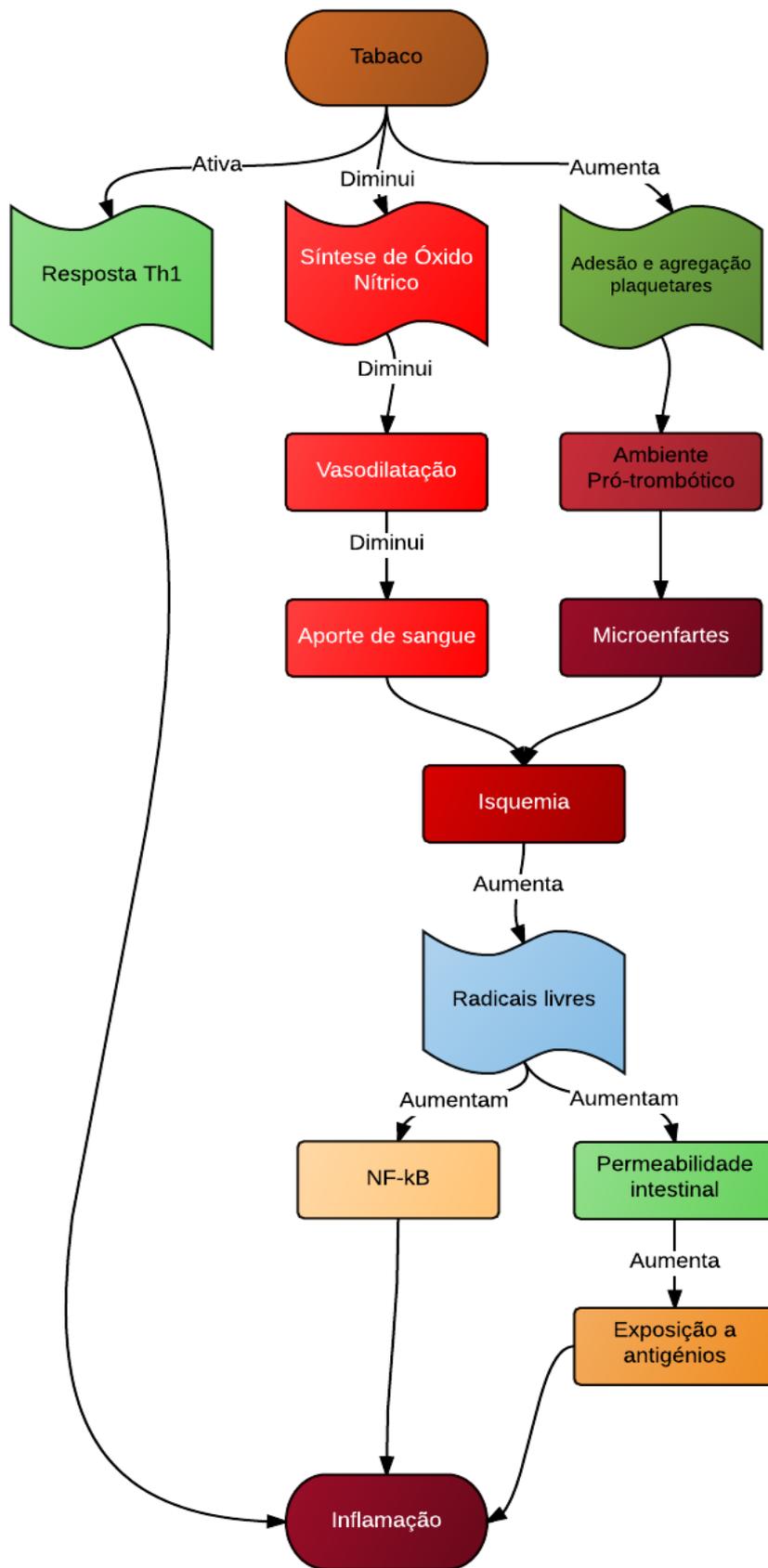
As intolerâncias alimentares são muito prevalentes na DII mas os dados que as ligam à fisiopatologia da doença são pouco consistentes. Por exemplo, não existe uma relação direta entre a intolerância à lactose e a DII. Quando presentes em simultâneo, a sensação de que a clínica agrava quando se bebe leite poderá ocorrer porque os sintomas da intolerância são semelhantes aos da DII. Assim, o agravamento poderá ser da responsabilidade de outro fator não identificado, e não do próprio leite (73). Noutro exemplo, num estudo realizado em americanos com DII (95), a dieta sem glúten conduziu a uma melhoria dos sintomas e exacerbações, mesmo sem o diagnóstico de doença celíaca. Porém, não foi testada nenhuma relação direta do glúten com a inflamação. O mesmo acontece com outros alimentos, já que os dados são baseados na perceção individual de cada doente, não sendo comprovado o efeito direto dos mesmos na inflamação (92).

## **TABACO**

O tabaco é o fator ambiental cuja relação com a DII foi melhor demonstrada (73). Essa relação é particularmente evidente na raça caucasiana e afeta mais prejudicialmente o sexo feminino (96). Os hábitos tabágicos são fator protector para a CU e aumentam o risco de desenvolvimento da DC (69,84–86,96,97). No entanto, o tabaco tanto aumenta risco de desenvolvimento de DC como de CU nos ex-fumadores (98). Recentemente, foi verificado que a cessação tabágica provoca alterações drásticas no microbioma, o que pode explicar os diferentes efeitos na fisiopatologia destas doenças (30).

### **Efeitos na DC**

Os mecanismos fisiopatológicos do tabaco na DC ainda não estão perfeitamente compreendidos. A glicoproteína do tabaco parece ser responsável pela promoção de uma resposta celular Th1 (73). O tabagismo também potencia a isquemia intestinal, porque provoca a diminuição da produção de óxido nítrico, um potente vasodilatador, comprometendo o aporte de sangue ao intestino. Além do mais, é capaz de potenciar a agregação e adesão plaquetares, proporcionando o ambiente pró-trombótico ideal para a formação de microenfartes no mesentério, condicionando uma vez mais isquemia de segmentos intestinais. A isquemia leva à geração de radicais livres de oxigénio que, por um lado, aumentam a permeabilidade intestinal, facilitando a exposição a antigénios e, por outro lado, aumentam a ativação do NF- $\kappa$ B, conduzindo à inflamação (1). Na Fig. 7, está representado este mecanismo.



**Figura 7:** Prováveis feitos fisiopatológicos do tabaco na DC (1,73). NF-κB: Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells.

Sabe-se que o tabaco aumenta para o dobro o risco de desenvolvimento de DC em indivíduos que nunca fumaram, mas este risco diminui após 4 anos de cessação tabágica (98). Os efeitos prejudiciais do tabaco na DC dependem da carga tabágica. Os sintomas são exacerbados nos fumadores (5,96). Nestes, parece haver uma pior evolução clínica, cuja responsabilidade é apontada a uma menor resposta à terapia farmacológica. O risco de recorrência da DC diminui nos 12 a 18 meses subsequentes a uma interrupção mínima de 6 meses nos hábitos tabágicos. A recorrência pós-cirúrgica é mais marcada nos doentes que fumam mais de 10 cigarros diários (73).

O consumo de tabaco também parece influenciar a localização da doença, havendo um menor envolvimento do cólon e uma preferência pelo íleo (96,98).

No entanto, alguns países com as maiores taxas de incidência da DC (Suécia e Canadá) têm as menores taxas de tabagismo, pelo que o tabaco poderá não ser fator de risco *per se* para o desenvolvimento da doença mas sim facilitar a sua expressão. Além disso, o *moist snuff* (semelhante ao tabaco de mascar), de consumo habitual nestas zonas, não aumenta a prevalência da DC (65), pelo que se pensa que sejam outros componentes dos cigarros, que não a nicotina, os principais intervenientes na fisiopatologia (86,87). Contra a hipótese de que os componentes não nicotínicos dos cigarros são os únicos responsáveis pela fisiopatologia da doença, existe um estudo em que a exposição pré-natal ou passiva ao fumo do tabaco na infância não estava associada com a DII, o que levanta várias hipóteses: o fumo passivo pode não ter concentrações suficientes dos compostos que provocam a doença; o tabagismo apenas tem influência no desenvolvimento da doença nos adultos; a medição da exposição individual ao fumo passivo é complexa (86).

## **Efeitos na CU**

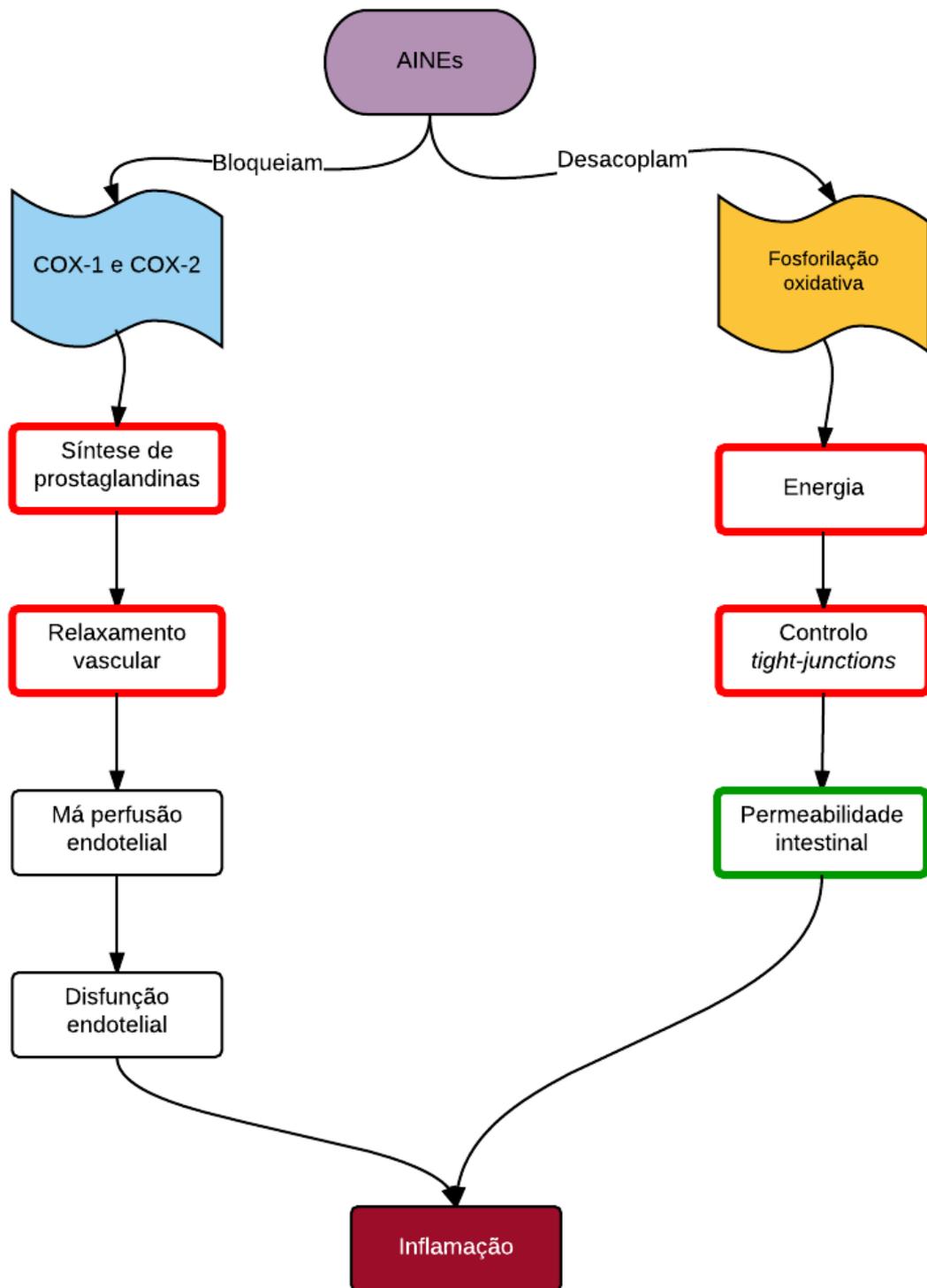
Já na CU, os fumadores têm menor probabilidade de desenvolvimento da doença, menor incidência de exacerbações, e reduzida necessidade de colectomia (81). Além disso, o consumo de tabaco mostrou-se protetor para a colangite esclerosante primária, uma manifestação extra-intestinal da CU, e para a pouchite (96). Após cessação tabágica, o risco de desenvolvimento de CU (81) e de exacerbações (92), aumenta nos 2 a 5 anos subsequentes, pelo que se deve informar os doentes que estejam a planear a cessação tabágica, dos riscos prováveis de agravamento dos sintomas a curto prazo (98). Para esta disparidade entre a CU e a DC, são apontadas como explicações o facto de o fumo do tabaco ter diferentes componentes químicos e as doenças terem características diferentes (5).

A nicotina é capaz de diminuir a síntese de citocinas pró-inflamatórias, como a IL-8, e aumentar as anti-inflamatórias, como a IL-4 (1). Assim, consegue estimular a remissão das formas ativas da CU, pelo que em ex-fumadores com CU resistente é proposta como terapêutica alternativa o retorno ao consumo de tabaco em doses tabágicas moderadas (73). Porém, novos estudos revelaram resultados equívocos sobre o papel da nicotina na CU, sendo avançado como hipótese que o efeito do tabaco nesta doença seja sim devido à resposta ao *stress* oxidativo (81) criado pelo fumo do tabaco, nas células mononucleares (92). Noutro artigo (98), é apresentada uma opinião contraditória e afirma-se que o doente com CU, ex-fumador, não deve ser encorajado a voltar aos hábitos tabágicos, já que o abandono do hábito traz benefícios a outros níveis, nomeadamente diminuição do risco de doenças cardiovasculares, respiratórias e cancro do pulmão.

## FÁRMACOS

### Anti-inflamatórios não esteroides

Os efeitos adversos gastrointestinais dos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) estão bem documentados, pelo que a suspeita do seu envolvimento na DII é legítima (99). Os AINEs podem iniciar a inflamação intestinal quando administrados a doentes suscetíveis, porque bloqueiam as enzimas cicloxigenase (COX)-1 e COX-2 impedindo a síntese de prostaglandinas (11,47), bem como desacoplam a fosforilação oxidativa mitocondrial, o que se vai traduzir num défice de energia, e consequente perda do controlo do citosqueleto sobre as *tight-junctions*, levando a um aumento da permeabilidade da barreira intestinal (30,99). São igualmente capazes de conduzir à disfunção endotelial (99), pois a diminuição das prostaglandinas diminui a vasodilatação, o que conduz à má perfusão endotelial e consequente dificuldade na reparação tecidual, aumentando a inflamação (1). Na Fig. 8 encontram-se representados estes mecanismos.



**Figura 8:** Efeitos dos anti-inflamatórios não esteróides na inflamação intestinal (1,11,30,47,99). Limite vermelho: diminui; Limite verde: aumenta. AINEs: anti-inflamatórios não esteroides. COX: cicloxigenase.

Vários estudos demonstraram o papel dos AINEs na suscetibilidade para a DII (86) e na reativação da doença (73). Noutro estudo (99), apenas foi encontrada relação entre a DII e o uso frequente e prolongado (>15 dias/mês) e em doses altas de AINEs. Porém, esse efeito não foi demonstrado com a aspirina. Como explicação para este último resultado, os investigadores teorizam que é provável dever-se ao efeito inibitório da aspirina, quando em doses baixas, apenas sobre a COX-1.

### **Contracetivos orais e terapêutica hormonal de substituição**

A noção de que a medicação que contem estrogénios (contracetivos orais e terapêutica hormonal de substituição) poderá ter impacto na DII, deriva do efeito comprovado dos estrogénios sobre o SI, potenciando-o, e aumentando a produção de TNF- $\alpha$  pelos macrófagos. Os estrogénios também podem promover a formação de microtrombos na vasculatura intestinal (73), conduzindo à isquemia. Além disso, já foram implicados na etiologia de outras doenças imunomediadas, como o lúpus eritematoso sistémico (100).

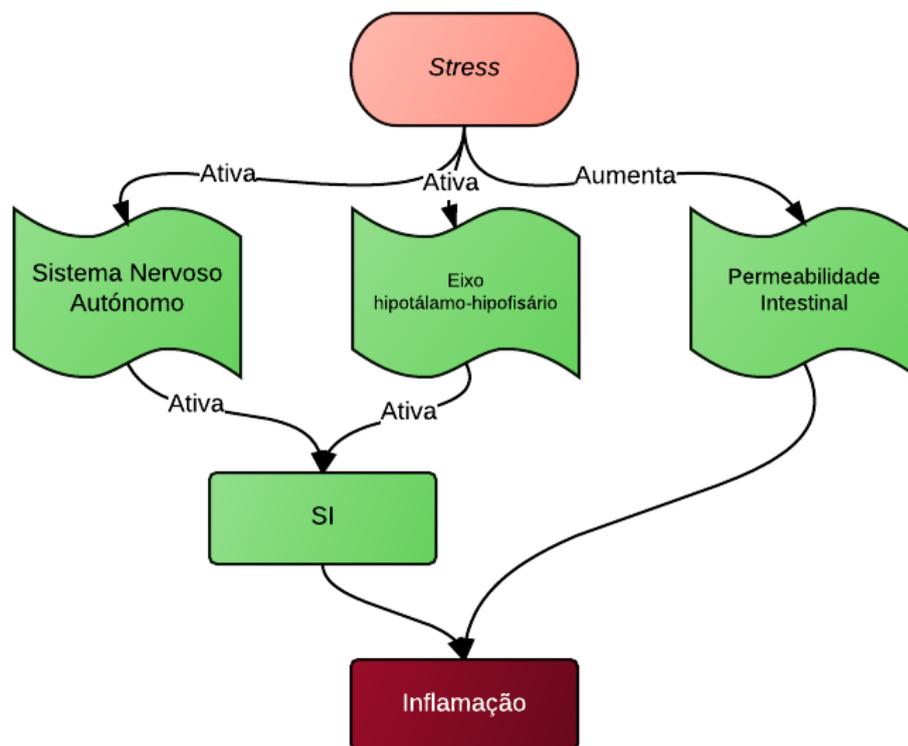
Os dados referentes ao efeito na DII dos contracetivos orais são muito controversos. Enquanto que num estudo com uma amostra da população dinamarquesa não é encontrada associação entre o uso de contracetivos orais e a DII (85), noutro fala-se da sua associação apenas com a DC (97) e, numa meta-análise (101) conclui-se que aumentam o risco de CU e DC de forma dependente do tempo de exposição, revertendo esse efeito com a descontinuação da toma.

Quando à terapêutica de substituição hormonal, um estudo prospetivo de coorte (100) encontrou risco de desenvolvimento de CU associado ao consumo destes fármacos por mulheres pós-menopáusicas, e os efeitos foram proporcionais ao tempo de exposição. A combinação de estrogénios com progestativos teve efeitos semelhantes. Para explicar este achado, os autores (100) teorizam que os diferentes genes implicados na DC e CU podem

modular vias biológicas distintas e que essas vias poderão ser influenciadas de forma diferente pelas hormonas exógenas administradas na terapêutica de substituição hormonal.

## STRESS – O EIXO CÉREBRO-INTESTINO

O *stress* ativa o eixo hipotálamo-hipofisário e o sistema nervoso autônomo, desencadeando um conjunto de ações que culminam na ativação do SI e na inflamação. Também é capaz de aumentar a permeabilidade intestinal, o que contribui para o aumento da inflamação no intestino (5,30). Estes mecanismos encontram-se representados na Fig. 9.



**Figura 9:** Efeitos do *stress* na promoção da inflamação (5,30). SI: Sistema Imunitário.

O aumento da permeabilidade intestinal ocorre porque o *stress* estimula o hipotálamo a secretar hormona libertadora da corticotrofina (CRH, *corticotropin-releasing hormone*). Existem recetores do tipo 1 e 2 para a CRH na maioria das células imunitárias presentes na lâmina própria do intestino, bem como nas células epiteliais intestinais. A CRH vai atuar nos seus recetores e aumentar a permeabilidade intestinal. A CRF também causa hiperplasia dos mastócitos, que são células imunitárias presentes na lâmina própria, com recetores para a

CRF, e com a capacidade já demonstrada de alterar a barreira mucosa intestinal e aumentar a sua permeabilidade, ainda por mecanismos não esclarecidos (102).

Apesar do papel promissor do *stress* na fisiopatologia da DII, são indicados resultados contraditórios quanto à relação deste com a DII (73,86). No entanto, um estudo de revisão (103) sobre esta problemática afirma que apesar de existirem incertezas sobre a relação do *stress* com o despoletar da doença, não existem dúvidas de que o *stress* é um fator determinante na recorrência da DII.

O papel do *stress* na DII também é proposto com base nas alterações afetivas que desencadeia. A patologia depressiva constitui um exemplo dessas alterações do humor e dos afetos. Na depressão *major* a DII exacerba (11), e mulheres com sintomas depressivos têm risco aumentado de desenvolver DC (30,81). Quanto à introdução de terapêutica antidepressiva para melhorar o estado somático e mental dos doentes com DII e depressão, ainda não é possível concluir se o uso de antidepressivos é ou não eficaz, pois a maioria dos dados nesta área provém de estudos metodologicamente fracos (103).

O uso de treinos de relaxamento e aconselhamento psicológico focado na DII mostraram eficácia na diminuição da sintomatologia da DII (103). Todavia, também já foi reportada a ausência de benefícios na DII com a terapêutica psicológica (81,92) como, por exemplo, com a terapêutica cognitiva-comportamental (103).

## **EXERCÍCIO FÍSICO**

O exercício físico consegue induzir a autofagia, uma capacidade que ajuda na proteção contra doenças inflamatórias, entre outras (104).

Foi demonstrado que o exercício físico protege contra o desenvolvimento da DC (30,98). Não foram observados efeitos na CU (30). A mesma correlação inversa entre a atividade física e a DC, e a ausência de relação com a CU, foi replicada num estudo (104) realizado com uma amostra de mulheres americanas. As mulheres fisicamente ativas (mais do que nove horas semanais de caminhada, a um ritmo moderado) tiveram uma redução de 44% do risco de desenvolvimento da DC face às sedentárias. A idade, índice de massa corporal e hábitos tabágicos (fatores de risco potenciais para o desenvolvimento da doença) não influenciaram a correlação inversa.

Esta hipótese coaduna-se com as variantes dos genes de autofagia identificadas como predisponentes para a DC. Se a doença é favorecida quando a autofagia está deficitária e o exercício é capaz de promover a autofagia, facilmente se percebe o efeito protetor do exercício na DC.

Em suma, os efeitos protetores do exercício físico merecem mais estudo no futuro, podendo tornar-se uma forma de prevenção da doença para indivíduos com predisposição genética para a DC, ou mesmo para os indivíduos com doença ativa, caso os resultados se repitam neste grupo (104).

## FATORES PARA OS QUAIS NÃO EXISTEM DADOS CONCLUSIVOS

Ao longo da elaboração deste trabalho de revisão, encontrou-se referência a vários fatores com possível influência na DII: vacinas e infecções na infância, obesidade, cirurgia e sono. No entanto, os estudos analisados não apresentaram dados conclusivos e comprovativos do efeito destes fatores na DII.

Quanto às vacinas e infecções da infância, os dados sobre estes temas poderão estar sujeitos ao viés da recordação (85), e o papel fisiopatológicos das vacinas na DII ainda está longe de ser provado (73).

Quanto à obesidade, apesar de rara na DII (3%), tem aumentado nos doentes com DC, particularmente nos tratados com corticoides (98).

No que respeita às cirurgias, a tonsilectomia diminuiu o risco de desenvolvimento de DC e CU num estudo com uma amostra da população dinamarquesa (85) mas numa amostra da população caucasiana australiana aumentou o risco de CU (82). A apendicectomia diminuiu o risco de CU em vários estudos (83–85,97) mas noutra estudo (44) foi relacionada com aumento do risco para DC. Assim, conclui-se que os efeitos destas cirurgias na DII são pouco claros e necessitam de confirmação.

Por fim, o sono de má qualidade está associado à ativação de células *natural killer* e monócitos. Tanto na DC como na CU, 100% dos doentes com doença ativa apresentaram padrões anormais de sono (30), mas tal poderá ser apenas uma consequência do quadro clínico, que carece, novamente, de dados confirmativos.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A Doença Inflamatória Intestinal (DII), uma patologia que envolve o tubo digestivo (1) e que pode ter manifestações extraintestinais (54), está a aumentar em incidência e a tornar-se uma doença global, deixando de estar confinada aos países ocidentais (6). Na última década verificou-se um incremento do interesse nesta problemática, comprovado pelo aumento dos estudos subordinados ao tema da DII (6). Estes estudos procuraram perceber quais os fatores microbiológicos e ambientais que desencadeiam uma resposta imune desadequada nos indivíduos geneticamente suscetíveis, conduzindo à inflamação crónica e à consequente DII (13,14). Face ao incremento de novos dados, a necessidade de um estudo de revisão que os sumarie impõe-se, para que mais facilmente se possam desenhar novas linhas de investigação nesta área.

No que concerne à temática dos fatores microbiológicos e seu impacto na DII, foi possível esboçar algumas conclusões. Sabe-se que o microbioma desempenha funções de proteção contra os microrganismos patogénicos, desenvolvimento do SI e manutenção da barreira mucosa intestinal (34), estabelecendo uma relação de equilíbrio com o hospedeiro (2). Quando esta homeostasia é perturbada, surge a disbiose.

Na disbiose da DII ocorre uma diminuição das bactérias protetoras e um aumento dos patobiontes bacterianos (23), víricos (39) (principalmente os bacteriófagos) (9) e fúngicos (21). Já os helmintas, cuja infeção diminui a presença de citocinas pró-inflamatórias no intestino, estão diminuídos (41).

Relativamente ao microbioma bacteriano na DII, o filo *Proteobacteria* aumenta em biodiversidade e o *Firmicutes* diminui. Quanto ao efeito no filo *Bacteroidetes*, os dados disponíveis quanto à biodiversidade são contraditórios.

No que concerne ao envolvimento do microbioma na fisiopatologia da DII, foram encontradas várias hipóteses explicativas, mas não foi possível concluir se a disbiose é causa ou consequência da inflamação (24,26,37) na DII. A favor da disbiose ser a causa da inflamação, foram identificados vários patobiontes com capacidades pró-inflamatórias (9), capazes de modular o sistema ubiquitina-proteassoma (50), interagir com enzimas (47,49), suprimir o crescimento dos microrganismos comensais e perpetuar, assim, o ciclo da inflamação (9). A favor da disbiose ser uma consequência da inflamação, não foram encontradas hipóteses explicativas válidas e consistentes. Para esclarecer esta questão, é fundamental compreender no futuro a forma como vírus, fungos e bactérias interagem, modulando o SI (12).

No que respeita às três questões colocadas no início do capítulo “O papel do microbioma na fisiopatologia da DII”, apesar de não terem sido encontrados dados que respondessem à questão sobre a existência de um microrganismo patogênico específico e persistente em todos os casos de DII, penso que é legítimo concluir que o microbioma comensal desempenha um papel no desenvolvimento da doença, em particular num contexto multifatorial. Em primeiro lugar, em modelos animais colocados em condições estéreis a DII não se desenvolve (42,44). Em segundo, na ausência do microbioma, o desenvolvimento de células reguladores e a integridade epitelial ficam comprometidos (42). Em terceiro, mutações genéticas como as do *NOD-2* e *ATG16L1* são capazes de predispor à inflamação intestinal por não regularem adequadamente os microrganismos comensais. Quanto aos fatores de risco de recorrência da doença conhecidos, pensa-se que estejam associados à disbiose, aumento de fatores pró-trombóticos, e danos no epitélio intestinal que causem aumento da permeabilidade da mucosa (1).

Em suma, a composição do microbioma muda ao longo das fases da doença, uma vez que os microrganismos que iniciam a inflamação são diferentes dos que a mantêm. Assim

sendo, torna-se difícil descortinar o papel do microbioma sem perceber adequadamente a fase da doença, o estado inflamatório do intestino, e as modificações que foram operadas pelas diferentes terapêuticas a que o indivíduo em estudo já foi sujeito, uma vez que todas estas variáveis são fatores de confusão (9). Também os resultados díspares entre os diferentes estudos podem ser devidos ao facto de estes não mimetizarem corretamente as fases da doença nos humanos, isto é, serem monofásicos (11,42,60), às diferenças entre o microbioma dos ratos de laboratório e o dos humanos, à desigualdade da dieta nos diferentes indivíduos, ao metabolismo, ao SI ou à resposta ao *stress* de cada pessoa singular (60).

No âmbito dos fatores ambientais, quanto à geografia e sociedade, a hipótese da higiene afigura-se como algo bastante provável (97). Também os indivíduos que migram de zonas com baixa prevalência de DII para zonas com elevada prevalência têm risco aumentado de desenvolver esta patologia (4), e o risco passa a ser semelhante ao do país de residência e não ao de origem (88).

Quanto à dieta, é difícil identificar os fatores dietéticos com influência na DII pois o seu número é elevado, podem interagir com o microbioma e genética (65), e o doente pode ter alterado a dieta quando começam os sintomas, antes do diagnóstico de DII ter sido equacionado, entre outros (65,68). Esta variabilidade de factores de confusão repercutiu-se nas informações desiguais sobre o mesmo tema entre artigos. Por exemplo, os dados relativos aos PUFA são muito díspares devido possivelmente ao facto de os alimentos mais ricos nestes ácidos serem de origem marinha, e os poluentes ambientais não estarem a ser tidos em consideração (13). Em suma, não existem evidências suficientes para retirar conclusões acerca do papel de alimentos específicos na fisiopatologia da DII (68). Assim, recomenda-se uma dieta o mais variada possível, com a evicção apenas dos alimentos que causem sintomatologia exacerbada e recorrente (73), tentando voltar às dietas tradicionais ricas em fibras e pobres em açúcar e gordura (66). No futuro, a identificação de elementos específicos da dieta na

fisiopatologia destas doenças poderá fornecer armas para a prevenção e terapêutica das mesmas (68).

Como fatores de risco ambiental com influência comprovada estatisticamente no desenvolvimento da DII, apenas foi possível identificar o consumo de tabaco como fator de risco na DC e fator protetor na CU (97). Quando aos restantes fatores abordados, as hipóteses levantadas para explicar o seu envolvimento fisiopatológico na DII são várias, mas os resultados são muito díspares entre estudos.

Esta disparidade de influências de fatores ambientais na DC e não na CU, e *vice-versa*, sugere a existência de vias divergentes implicadas na fisiopatologia destas duas doenças (30,92). É imperioso identificar quais os fatores envolvidos, para que seja possível modificá-los, atuando na prevenção primária e na história natural da doença (92).

A identificação de fatores de risco ambientais tem sido dificultada pela heterogeneidade de metodologias utilizadas nos ensaios clínicos. Essa heterogeneidade reflete-se nos métodos de seleção e tamanho de amostras de casos e controlos, nos vieses de resposta, prevalência, diagnóstico e classificação da exposição, bem como na variabilidade temporal das diferentes variáveis, nos fatores de confusão, nos dados em falta, nos erros de comparação, na falta de validade externa do estudo, e na interação entre genética e ambiente (97). Muitos dos resultados dos estudos não são estatisticamente significativos ou são apresentados dados contraditórios entre eles. Além do mais, a maioria dos estudos são casos-controlo e baseiam-se nos dados fornecidos pelos doentes relativamente à sua dieta prévia à doença (13), que poderá ter sido alterada pelos próprios aquando do aparecimento dos primeiros sintomas, e ainda na ausência de um diagnóstico, por exemplo (68). Foi neste ponto que residiram as principais dificuldades com a redação deste trabalho.

Para colmatar estas falhas, é imperioso, no futuro, estandardizar os métodos utilizados nos diferentes estudos, replicar os resultados em estudos de coorte independentes, estratificar os doentes em populações homogêneas, estudar populações em risco, e utilizar técnicas analíticas que eliminem os fatores de confusão (65). A escolha pela população pediátrica deverá ser preferencial, já que os seus curtos anos de vida conduzem a um menor número e tempo de exposição a fatores ambientais, e a uma inferior acumulação de toxinas, o que tornará mais fácil a identificação dos fatores de risco neste âmbito (78).

Além disso, o desenvolvimento tecnológico pode ser utilizado a favor da investigação no âmbito da DII. Por exemplo, os telemóveis poderão ser programados para medir a exposição a fatores ambientais de risco para o desenvolvimento de DII (30). Também poderão utilizar-se dietas desenhadas em laboratório, suplementadas com os nutrientes benéficos para os doentes com DII, apostando não só na promoção da remissão da doença como também na prevenção (14).

Finalmente, no que respeita ao tratamento com probióticos, prébióticos, antibióticos e outras abordagens terapêuticas, os resultados obtidos quanto ao potencial terapêutico dos novos métodos de tratamento são heterogêneos (32). A dificuldade no desenvolvimento destas novas terapêuticas poderá dever-se às diferenças entre doentes, à heterogeneidade das patologias, a terminologias erradas, e a anúncios a produtos alimentares inadequadamente designados como probióticos (60).

É fundamental que no futuro se compreenda adequadamente a fisiopatologia da DII, para que se possam desenvolver armas terapêuticas dirigidas aos fatores de risco, procurando não só tratar mas também prevenir o aparecimento da DII.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Mestre Rui Vasco Quintais Gradiz, e à minha coorientadora, Professora Anabela Mota Pinto, pelo apoio prestado ao longo deste percurso, com a duração de mais de um ano. Foram incansáveis, no auxílio prestado no desenvolvimento do trabalho, e no esclarecimento das minhas numerosas dúvidas.

Deixo também o meu apreço à Dra. Rita Guerreiro e à Dra. Sandra Lima, bibliotecárias na Biblioteca das Ciências da Saúde da Universidade de Coimbra, por me terem elucidado quanto aos recursos disponíveis para pesquisa na biblioteca, e pelo apoio personalizado ao longo da recolha de referências bibliográficas, bem como à Dra. Helena Donato, diretora do Serviço de Documentação do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), pela formação subordinada ao tema “Métodos de pesquisa bibliográfica”. Um agradecimento também à D. Leonor Malva Salguinho, Assistente Técnica do Instituto de Patologia Geral, pelo auxílio prestado na resolução de questões burocráticas e normativas relativas a este trabalho.

Por último, agradeço a todos os meus familiares e amigos, em especial aos meus pais, Rui e Margarida, e ao meu namorado, João Pedro, pelas palavras carinhosas e de incentivo, nos momentos em que o desânimo teimava em aparecer.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martin TD, Chan SSM, Hart AR. Environmental Factors in the Relapse and Recurrence of Inflammatory Bowel Disease: A Review of the Literature. *Dig Dis Sci*. 2015;60(5):1396–405.
2. Chen W-X. Enteric microbiota leads to new therapeutic strategies for ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(42):15657–63.
3. Reiff C, Kelly D. Inflammatory bowel disease, gut bacteria and probiotic therapy. *Int J Med Microbiol*. 2010;300(1):25–33.
4. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*. 2012;142(1):46–54.e42.
5. Neuman MG, Nanau RM. Inflammatory bowel disease: Role of diet, microbiota, life style. *Transl Res*. 2012;160(1):29–44.
6. Hold GL, Smith M, Grange C, Watt ER, El-Omar EM, Mukhopadhyaya I. Role of the gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: What have we learnt in the past 10 years? *World J Gastroenterol*. 2014;20(5):1192–210.
7. Carrière J. Infectious etiopathogenesis of Crohn's disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(34):12102–17.
8. Merenstein D, El-nachef N, Lynch S V. Fecal Microbial Therapy: Promises and Pitfalls. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;59(2):157–61.
9. Dalal SR, Chang EB. The microbial basis of inflammatory bowel diseases. *J Clin Invest*. 2014;124(10):4191–6.
10. National Library of Medicine. Medical Subject Headings [ consultado Dez 2015].
11. Corridoni D, Arseneau KO, Cominelli F. Inflammatory bowel disease. *Immunol Lett*. 2014;161(2):231–5.
12. Scharl M, Rogler G. Inflammatory bowel disease pathogenesis: what is new? *Curr Opin Gastroenterol*. 2012;28(4):301–9.
13. Gentschew L, Ferguson LR. Role of nutrition and microbiota in susceptibility to inflammatory bowel diseases. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56(4):524–35.
14. Lee D, Albenberg L, Compher C, Baldassano R, Piccoli D, Lewis JD, et al. Diet in the Pathogenesis and Treatment of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2015;148(6):1087–106.
15. Zhang Y-Z, Yi-Zhen Y-YL. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World J*

- Gastroenterol. 2014;20(1):91–9.
16. Gonçalves C, Bairos V. Intestino. In: *Histologia: Texto e Imagens*. 3<sup>a</sup> ed. Coimbra: Imprensa da Universidade; 2010. p. 245–63.
  17. Antoni L, Nuding S, Wehkamp J, Stange EF. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(5):1165–79.
  18. Jeffery I, O’Toole P. Diet-Microbiota Interactions and Their Implications for Healthy Living. *Nutrients*. 2013;5(1):234–52.
  19. Elson CO, Cong Y. Host-microbiota interactions in inflammatory bowel disease. *Gut Microbes*. 2012;3(4):332–44.
  20. Johansson ME V, Larsson JMH, Hansson GC. The two mucus layers of colon are organized by the MUC2 mucin, whereas the outer layer is a legislator of host-microbial interactions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(suppl. 1):4659–65.
  21. Li Q, Wang C, Tang C, He Q, Li N, Li J. Dysbiosis of Gut Fungal Microbiota is Associated With Mucosal Inflammation in Crohn’s Disease. *J Clin Gastroenterol*. 2014;48(6):513–23.
  22. Kamada N, Chen GY, Inohara N, Núñez G. Control of Pathogens and Pathobionts by Gut Microbiota. *Nat Immunol*. 2013;14(7):685–90.
  23. Wu GD, Bushmanc FD, Lewis JD. Diet, the human gut microbiota, and IBD. *Anaerobe*. 2013;24:117–20.
  24. Martín R, Miquel S, Ulmer J, Kechaou N, Langella P, Bermúdez-Humarán LG. Role of commensal and probiotic bacteria in human health: a focus on inflammatory bowel disease. *Microb Cell Fact*. 2013;12:71.
  25. Cammarota G, Ianiro G, Cianci R, Bibbò S, Gasbarrini A, Currò D. The involvement of gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: Potential for therapy. *Pharmacol Ther*. 2015;149:191–212.
  26. Comito D, Cascio A, Romano C. Microbiota biodiversity in inflammatory bowel disease. *Ital J Pediatr*. 2014;40:32.
  27. DuPont A, Richards, Jelinek KA, Krill J, Rahimi E, Ghouri Y. Systematic review of randomized controlled trials of probiotics, prebiotics, and synbiotics in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol*. 2014;7:473–87.
  28. Morgan XC, Tickle TL, Sokol H, Gevers D, Devaney KL, Ward D V, et al. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biol*. 2012;13(9):R79.
  29. Rigottier-Gois L. Dysbiosis in inflammatory bowel diseases: the oxygen hypothesis.

- ISME J. Nature Publishing Group; 2013;7(7):1256–61.
30. O’Toole A, Korzenik J. Environmental Triggers for IBD. *Curr Gastroenterol Rep.* 2014;16(7):396.
  31. Bager P, Simonsen J, Nielsen NM, Frisch M. Cesarean section and offspring’s risk of inflammatory bowel disease: A national cohort study. *Inflamm Bowel Dis.* 2012;18(5):857–62.
  32. Kerman DH, Deshpande AR. Gut microbiota and inflammatory bowel disease: the role of antibiotics in disease management. *Postgrad Med.* 2014;126(4):7–19.
  33. Scribano ML, Prantera C. Antibiotics and Inflammatory Bowel Diseases. *Dig Dis.* 2013;31(3-4):379–84.
  34. Yu CG, Huang Q. Recent progress on the role of gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *J Dig Dis.* 2013;14(10):513–7.
  35. Schippa S, Conte M. Dysbiotic Events in Gut Microbiota: Impact on Human Health. *Nutrients.* 2014;6(12):5786–805.
  36. Mayer E a., Savidge T, Shulman RJ. Brain-gut microbiome interactions and functional bowel disorders. *Gastroenterology.* 2014;146(6):1500–12.
  37. Allegretti JR, Hamilton MJ. Restoring the gut microbiome for the treatment of inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.* 2014;20(13):3468–74.
  38. Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: Current status and the future ahead. *Gastroenterology.* 2014;146(6):1489–99.
  39. Norman JM, Handley SA, Baldridge MT, Droit L, Liu CY, Keller BC, et al. Disease-Specific Alterations in the Enteric Virome in Inflammatory Bowel Disease. *Cell.* 2015;160(3):447–60.
  40. Iliev ID, Funari VA, Taylor KD, Nguyen Q, Reyes CN, Strom SP, et al. Interactions Between Commensal Fungi and the C-Type Lectin Receptor Dectin-1 Influence Colitis. *Science.* 2012;336(6086):1314–7.
  41. Berrilli F, Di Cave D, Cavallero S, D’Amelio S. Interactions between parasites and microbial communities in the human gut. *Front Cell Infect Microbiol.* 2012;2:141.
  42. Peloquin JM, Nguyen DD. The microbiota and inflammatory bowel disease: Insights from animal models. *Anaerobe.* 2013;24:102–6.
  43. Scribano ML, Prantera C. Use of antibiotics in the treatment of Crohn’s disease. *World J Gastroenterol.* 2013;19(5):648–53.
  44. Andersen V, Olsen A, Carbonnel F, Tjønneland A, Vogel U. Diet and risk of inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis.* 2012;44(3):185–94.

45. Wallace KL, Zheng L-B, Kanazawa Y, Shih DQ. Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(1):6–21.
46. Cleynen I, Vazeille E, Artieda M, Verspaget HW, Szczypiorska M, Bringer M-A, et al. Genetic and microbial factors modulating the ubiquitin proteasome system in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2014;63(8):1265–74.
47. Carroll IM, Maharshak N. Enteric bacterial proteases in inflammatory bowel disease—pathophysiology and clinical implications. *World J Gastroenterol*. 2013;19(43):7531–43.
48. Tchoupa AK, Schuhmacher T, Hauck CR. Signaling by epithelial members of the CEACAM family - mucosal docking sites for pathogenic bacteria. *Cell Commun Signal*. 2014;12:27.
49. Estaki M, DeCoffe D, Gibson DL. Interplay between intestinal alkaline phosphatase, diet, gut microbes and immunity. *World J Gastroenterol*. 2014;20(42):15650–6.
50. Angriman I, Scarpa M, Castagliuolo I, Imerio. Relationship between pouch microbiota and pouchitis following restorative proctocolectomy for ulcerative colitis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(29):9665–74.
51. Reshef L, Kovacs A, Ofer A, Yahav L, Maharshak N, Keren N, et al. Pouch Inflammation is Associated with a Decrease in Specific Bacterial Taxa. *Gastroenterology*. 2015;149(3):718–27.
52. Machiels K, Joossens M, Sabino J, De Preter V, Arijis I, Eeckhaut V, et al. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut*. 2013;63:1275–83.
53. Wang W, Chen L, Zhou R, Wang X, Song L, Huang S, et al. Increased proportions of *Bifidobacterium* and the *Lactobacillus* group and loss of butyrate-producing bacteria in inflammatory bowel disease. *J Clin Microbiol*. 2014;52(2):398–406.
54. Bellaguarda E, Chang EB. IBD and the Gut Microbiota—from Bench to Personalized Medicine. *Curr Gastroenterol Rep*. 2015;17(4):15.
55. Underwood M a. Intestinal dysbiosis: Novel mechanisms by which gut microbes trigger and prevent disease. *Prev Med (Baltim)*. 2014;65:133–7.
56. Gevers D, Kugathasan S, Denson L a., Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn’s disease. *Cell Host Microbe*. 2014;15(3):382–92.
57. Sager K, Alam S, Bond A, Chinnappan L, Probert CS. Review article: cytomegalovirus and inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015;41(8):725–33.

58. Homer CR, Richmond AL, Rebert NA, Achkar J, McDonald C. ATG16L1 and NOD2 interact in an autophagy-dependent antibacterial pathway implicated in crohn's disease pathogenesis. *Gastroenterology*. 2010;139(5):1630–41.e2.
59. Tabbaa M, Golubic M, Roizen MF, Bernstein AM. Docosahexaenoic acid, inflammation, and bacterial dysbiosis in relation to periodontal disease, inflammatory bowel disease, and the metabolic syndrome. *Nutrients*. 2013;5(8):3299–310.
60. Shanahan F, Quigley EMM. Manipulation of the microbiota for treatment of IBS and IBD - Challenges and controversies. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1554–63.
61. Scher JU, Ubeda C, Artacho A, Attur M, Isaac S, Reddy SM, et al. Decreased Bacterial Diversity Characterizes the Altered Gut Microbiota in Patients With Psoriatic Arthritis, Resembling Dysbiosis in Inflammatory Bowel Disease. *Arthritis Rheumatol*. 2015;67(1):128–39.
62. Kronman MP, Zaoutis TE, Haynes K, Feng R, Coffin SE. Antibiotic Exposure and IBD Development Among Children: A Population-Based Cohort Study. *Pediatrics*. 2012;130(4):e794–803.
63. Guo AY, Stevens BW, Wilson RG, Russell CN, Cohen M a, Sturgeon HC, et al. Early life environment and natural history of inflammatory bowel diseases. *BMC Gastroenterol*. 2014;14:216.
64. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014;505(7484):559–63.
65. Ng SC, Bernstein CN, Vatn MH, Lakatos PL, Loftus E V, Tysk C, et al. Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2013;62(4):630–49.
66. Kanai T, Matsuoka K, Naganuma M, Hayashi A, Hisamatsu T. Diet, microbiota, and inflammatory bowel disease: Lessons from Japanese foods. *Korean J Intern Med*. 2014;29(4):409–15.
67. Kunde S, Pham A, Bonczyk S, Crumb T, Duba M, Conrad H, et al. Safety, Tolerability, and Clinical Response After Fecal Transplantation in Children and Young Adults With Ulcerative Colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013;56(6):597–601.
68. Spooren CEGM, Pierik MJ, Zeegers MP, Feskens EJM, Masclee a a M, Jonkers DM a E. Review article: the association of diet with onset and relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38(10):1172–87.
69. Shanahan F. The microbiota in inflammatory bowel disease: friend, bystander, and

- sometime-villain. *Nutr Rev.* 2012;70 Suppl 1:S31–7.
70. Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onischi C, et al. Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology.* 2015;149(1):102–9.e6.
  71. Rossen NG, Fuentes S, van der Spek MJ, Tijssen JG, Hartman JHA, Duflou A, et al. Findings From a Randomized Controlled Trial of Fecal Transplantation for Patients With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology.* 2015;149(1):110–8.e4.
  72. Prantera C, Lochs H, Grimaldi M, Danese S, Scribano ML, Gionchetti P. Rifaximin-extended intestinal release induces remission in patients with moderately active Crohn’s disease. *Gastroenterology.* 2012;142(3):473–81.e4.
  73. Cabré E. Impact of environmental and dietary factors on the course of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2012;18(29):3814–22.
  74. M Chan SS, Luben R, Olsen A, Tjønneland A, Kaaks R, Lindgren S, et al. Association between high dietary intake of the n-3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic acid and reduced risk of Crohn’s disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39(8):834–42.
  75. Kakodkar S, Farooqui AJ, Mikolaitis SL, Mutlu EA. The Specific Carbohydrate Diet for Inflammatory Bowel Disease: A Case Series. *J Acad Nutr Diet.* 2015;115(8):1226–32.
  76. Cantorna MT, McDaniel K, Bora S, Chen J, James J. Vitamin D, immune regulation, the microbiota, and inflammatory bowel disease. *Exp Biol Med.* 2014;239(11):1524–30.
  77. Garg M, Lubel JS, Sparrow MP, Holt SG, Gibson PR. Review article: vitamin D and inflammatory bowel disease--established concepts and future directions. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;36(4):324–44.
  78. Aujnarain A, Mack DR, Benchimol EI. The Role of the Environment in the Development of Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *Curr Gastroenterol Rep.* 2013;15(6):326.
  79. Nerich V, Jantchou P, Boutron-Ruault M-C, Monnet E, Weill A, Vanbockstael V, et al. Low exposure to sunlight is a risk factor for Crohn’s disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;33(8):940–5.
  80. Burisch J, Pedersen N, Cukovic-Cavka S, Turk N, Kaimakliotis I, Duricova D, et al. Environmental factors in a population-based inception cohort of inflammatory bowel disease patients in Europe - An ECCO-EpiCom study. *J Crohn’s Colitis.* 2014;8(7):607–16.

81. Ananthakrishnan AN. Environmental triggers for inflammatory bowel disease. *Curr Gastroenterol Rep.* 2013;15(1):302.
82. Ko Y, Kariyawasam V, Karnib M, Butcher R, Samuels D, Alrubaie A, et al. Inflammatory Bowel Disease Environmental Risk Factors: A Population-Based Case-Control Study of Middle Eastern Migration to Australia. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2015;13(8):1453–63.e1.
83. Ko Y, Butcher R, Leong RW. Epidemiological studies of migration and environmental risk factors in the inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.* 2014;20(5):1238–47.
84. López-Serrano P, Pérez-Calle JL, Pérez-Fernández MT, Fernández-Font JM, Boixeda de Miguel D, Fernández-Rodríguez CM. Environmental risk factors in inflammatory bowel diseases. Investigating the hygiene hypothesis: a Spanish case-control study. *Scand J Gastroenterol.* 2010;45(12):1464–71.
85. Hansen TS, Jess T, Vind I, Elkjaer M, Nielsen MF, Gamborg M, et al. Environmental factors in inflammatory bowel disease: A case-control study based on a Danish inception cohort. *J Crohn's Colitis.* 2011;5(6):577–84.
86. Frolkis A, Dieleman L a, Barkema H, Panaccione R, Ghosh S, Fedorak RN, et al. Environment and the inflammatory bowel diseases. *Can J Gastroenterol.* 2013;27(3):e18–24.
87. Beamish L a., Osornio-Vargas AR, Wine E. Air pollution: An environmental factor contributing to intestinal disease. *J Crohn's Colitis.* 2011;5(4):279–86.
88. Ananthakrishnan AN, McGinley EL, Binion DG, Saeian K. Ambient air pollution correlates with hospitalizations for inflammatory bowel disease: An ecologic analysis. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17(5):1138–45.
89. Jung YS, Song CS, Kim ER, Park D Il, Kim YH, Cha JM, et al. Seasonal variation in months of birth and symptom flares in Korean patients with inflammatory bowel disease. *Gut Liver.* 2013;7(6):661–7.
90. Khalili H, Ananthakrishnan AN, Higuchi LM, Richter JM, Fuchs CS, Chan A t. Early Life Factors and Risk of Inflammatory Bowel Disease in Adulthood. *Inflamm Bowel Dis.* 2013;19(3):542–7.
91. Hlavaty T, Krajcovicova A, Koller T, Toth J, Nevidanska M, Huorka M, et al. Higher vitamin D serum concentration increases health related quality of life in patients with inflammatory bowel diseases. *World J Gastroenterol.* 2014;20(42):15787–96.
92. Ananthakrishnan AN. Environmental Risk Factors for Inflammatory Bowel Disease: a

- review. *Dig Dis Sci*. 2015;60(2):290–8.
93. Pappa HM, Mitchell PD, Jiang H, Kassiff S, Filip-Dhima R, DiFabio D, et al. Maintenance of Optimal Vitamin D Status in Children and Adolescents With Inflammatory Bowel Disease: A Randomized Clinical Trial Comparing Two Regimens. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(9):3408–17.
  94. Kini GP, Young B, Herbison P, Schultz M. Does seasonal level of serum 25-OH vitamin D correlate with the activity of Crohn's disease? *N Z Med J*. 2014;127(1394):51–9.
  95. Herfarth HH, Martin CF, Sandler RS, Kappelman MD, Long MD. Prevalence of a gluten free diet and improvement of clinical symptoms in patients with inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20(7):1194–7.
  96. Pereira P. O tabaco e a doença inflamatória intestinal [Dissertação de Mestrado]. Universidade do Porto; 2014.
  97. Molodecky NA, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Challenges associated with identifying the environmental determinants of the inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*. 2011 Aug;17(8):1792–9.
  98. Cosnes J. Smoking, physical activity, nutrition and lifestyle: Environmental factors and their impact on IBD. *Dig Dis*. 2010;28(3):411–7.
  99. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Richter JM, Fuchs CS. Aspirin, Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Use, and Risk for Crohn Disease Ulcerative Colitis: a cohort study. *Ann Intern Med*. 2012;156(5):350–9.
  100. Khalili H, Higuchi LM, Ananthakrishnan AN, Manson JE, Feskanich D, Richter JM, et al. Hormone therapy increases risk of ulcerative colitis but not Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2012;143(5):1199–206.
  101. Cornish J a, Tan E, Simillis C, Clark SK, Teare J, Tekkis PP. The risk of oral contraceptives in the etiology of inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(9):2394–400.
  102. Rodiño-Janeiro BK, Alonso-Cotoner C, Pigrau M, Lobo B, Vicario M, Santos J. Role of Corticotropin-releasing Factor in Gastrointestinal Permeability. *J Neurogastroenterol Motil*. 2015;21(1):33–50.
  103. Sajadinejad MS, Asgari K, Molavi H, Kalantari M, Adibi P. Psychological issues in inflammatory bowel disease: An overview. *Gastroenterol Res Pract*. 2012;2012.
  104. Khalili H, Ananthakrishnan AN, Konijeti GG, Liao X, Higuchi LM, Fuchs CS, et al. Physical activity and risk of inflammatory bowel disease : prospective study from the

Nurses ' Health Study cohorts. BMJ. 2013;347(November):6633.