



Mariana da Costa Rolo

PROBIÓTICOS NA SAÚDE E NA DOENÇA

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Gabriela Conceição Duarte Jorge da Silva e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Mariana da Costa Rolo

PROBIÓTICOS NA SAÚDE E NA DOENÇA

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas,
orientada pela Professora Doutora Gabriela Conceição Duarte Jorge da Silva e apresentada à
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Mariana da Costa Rolo, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2011156410, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 16 de setembro de 2016

(Mariana da Costa Rolo)

PROBIÓTICOS NA SAÚDE E NA DOENÇA

A Tutora

(Professora Doutora Gabriela Conceição Duarte Jorge da Silva)

A Aluna

(Mariana da Costa Rolo)

AGRADECIMENTOS

*À minha **família**, em particular à minha mãe e irmãos, por estarem sempre do meu lado, me influenciarem e apoiarem ao longo destes anos da minha vida.*

*Aos meus **amigos**, que me suportam, animam, distraem e me fazem crescer diariamente:
Às amigas de infância, pela confiança, lealdade e afeição de anos e por permanecerem sempre comigo.*

Aos amigos da faculdade, demasiados, mais do que alguma vez imaginei, pela companhia e por fazerem parte das melhores memórias da minha vida.

Ao Kevin, por nos últimos tempos ter sido o melhor amigo que alguém poderia ter.

*À **Professora Doutora Gabriela J. da Silva**, minha tutora, pela paciência, acompanhamento e disponibilidade demonstrada.*

“Wonder is the seed of knowledge”

— Francis Bacon

ÍNDICE

ACRÓNIMOS	2
RESUMO.....	3
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO	4
MICROBIOTA INTESTINAL HUMANO	5
1. Composição e Distribuição	5
2. Funções do Microbiota Intestinal	6
2.1 Participação na formação da parede intestinal.....	7
2.2 Resistência à colonização de patógenos.....	7
2.3 Produção de ácidos gordos de pequena cadeia e de vitaminas.....	7
2.4 Contribuição para a homeostase proteica.....	8
2.5 Interação com o sistema imune da mucosa.....	8
2.6 Degradação de xenobióticos	9
PROBIÓTICOS.....	10
1. Conceito.....	10
2. Critérios de Seleção.....	10
3. Probióticos comumente utilizados	11
3.1 <i>Lactobacillus</i> spp.	12
3.2 <i>Bifidobacterium</i> spp.	13
4. Benefícios para a saúde – Mecanismos de Ação	13
4.1 Modulação do Microbiota Intestinal.....	14
4.2 Melhoria da Função Barreira.....	15
4.3 Imunomodulação	16
4.4 Interferência no <i>Quorum Sensing</i>	16
5. Exemplos de benefícios em Doença	17
5.1 Diarreia associada a Antibióticos e a <i>Clostridium Difficile</i>	17
5.2 Doença Inflamatória do Intestino	19
5.3 Obesidade	21
PROJETO MICROBIOMA HUMANO E METAHIT	23
CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

ACRÓNIMOS

AAD – diarreia associada a antibióticos

CD – doença de Crohn

CDAD – doença associada a *Clostridium difficile*

FAO – *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

FDA – *Food and Drug Administration*

IBD – doença inflamatória do intestino

IMC – Índice de Massa Corporal

GALT – tecido linfóide associado ao intestino

HMP – Projeto Microbioma Humano

LAB – bactérias produtoras de ácido láctico

LPS – lipopolissacarídeos

MAMPs – padrões moleculares associados a micróbios

MetaHIT – *Metagenomics of the Human Intestinal Tract*

PAMPs – padrões moleculares associados a patógenos

SCFA – ácidos gordos de pequena cadeia

TGI – trato gastrointestinal

UC – colite ulcerosa

WHO – *World Health Organization*

RESUMO

O intestino humano é um grande e complexo ecossistema, onde o microbiota interage com alimentos, xenobióticos e células do hospedeiro, mantendo a homeostase e ajudando no desenvolvimento do hospedeiro. O microbiota intestinal tem, então, várias funções benéficas para o hospedeiro, como funções metabólicas e protetoras. Deste modo, mudanças na composição e/ou atividade do microbiota podem conduzir a consequências negativas para a saúde humana, sendo que várias doenças têm sido associadas a disbiose. Esta relação entre microbiota intestinal e o estado de saúde do indivíduo, tem despertado interesse na utilização de probióticos de forma a modular o microbiota intestinal e prevenir ou tratar algumas doenças.

Esta monografia foca-se, assim, nos probióticos, nos seus mecanismos de ação benéficos para a saúde e em alguns exemplos de benefícios em situações de doença.

Palavras-chave: microbiota intestinal, disbiose, probióticos, benefícios para a saúde.

ABSTRACT

The human gut is a huge and complex ecosystem where microbiota interacts with food, xenobiotics and host cells to maintain homeostasis and to help the host's development. The gut microbiota has several beneficial functions for the host, like metabolic and protective functions. Therefore, changes in composition and activity of the gut microbiota can have a negative impact on human health and many diseases have been associated to dysbiosis. These connections established between gut microbiota, health and disease have led scientists to question whether probiotics could be used to modulate the gut microbiota and to prevent or treat some diseases.

The present work focuses on probiotics and mechanisms of action behind their positive influence on human health, as well as their beneficial impact in some diseases.

Keywords: gut microbiota, dysbiosis, probiotics, health benefits.

INTRODUÇÃO

A ideologia da população da atualidade, consciente da importância da saúde, pode ser traduzida pela conhecida frase de Hipócrates, “*Let food be thy medicine and medicine be thy food*” [1]. A preocupação crescente com os hábitos alimentares e a sua relação com a saúde e longevidade de vida tem estimulado o desenvolvimento de um grande número de estudos na área da nutrição.

Deste modo, o papel do microbiota intestinal na etiologia de várias patologias tem sido bastante discutido, assim como o efeito da dieta na sua modulação e a sua associação com a redução do risco de desenvolvimento de doenças. Como resultado, nos anos recentes, o conceito de alimentos funcionais tem enfatizado que os alimentos não só são vitais para a sobrevivência do ser humano, como podem exercer efeitos benéficos na composição e/ou atividade do microbiota intestinal, prevenindo e reduzindo o risco de várias doenças e melhorando também certas funções fisiológicas essenciais [1, 2].

O consumo de micro-organismos probióticos é, então, uma alternativa para influenciar benéficamente a ecologia intestinal microbiana, mantendo a homeostase intestinal, controlando a disbiose e, conseqüentemente, melhorando a saúde do indivíduo. Assim, o microbiota intestinal é um importante alvo para intervenções com probióticos, administrados como suplementos ou como alimentos, com o objetivo de modular a composição da comunidade microbiana e também sua capacidade funcional [2].

O desenvolvimento de terapêuticas adjuvantes ou alternativas baseadas na reposição ou substituição bacteriana é também importante devido à rápida emergência de estirpes patogênicas resistentes a antibióticos e aos efeitos adversos dos mesmos no microbiota intestinal [3, 4].

Dada a pertinência desta questão, foi realizada a presente monografia, tendo como principal objetivo a exposição dos benefícios da utilização dos probióticos para o Homem. A monografia inicia-se com uma breve abordagem acerca da constituição do microbiota intestinal humano e das suas funções enquanto “órgão” do corpo humano. Posteriormente, define-se probióticos, enumeram-se os critérios a ter na seleção de um probiótico ideal e apresentam-se alguns dos mais utilizados. De seguida, referem-se os mecanismos de ação pelos quais estes micro-organismos exercem um efeito benéfico no hospedeiro e alguns exemplos dos seus benefícios em situações de doença. Por último, expõem-se o Projeto Microbioma Humano e o MetaHIT, projetos que visam a caracterização do microbioma humano e o seu papel na saúde e na doença.

MICROBIOTA INTESTINAL HUMANO

Com a evolução, hospedeiros e micro-organismos forjaram uma relação mutualmente benéfica ou tolerante. Nos humanos e mamíferos, a aquisição dos micro-organismos intestinais não ocorre aleatoriamente e é bastante dependente de fatores intrínsecos ao hospedeiro, outros intrínsecos aos micro-organismos e também de fatores ambientais [5].

O trato gastrointestinal (TGI) do recém-nascido é inicialmente estéril, mas a colonização microbiana inicia-se imediatamente após o nascimento, com micro-organismos provenientes da mãe e também do ambiente circundante. O microbiota – conjunto de todos os micro-organismos que residem num hospedeiro ou determinada parte do corpo dele [6] – do recém-nascido desenvolve-se rapidamente e, no início, é fortemente dependente do microbiota da mãe, do modo do parto (natural ou cesariana), do ambiente e da higiene presentes. Posteriormente, será influenciado pelas práticas alimentares e ambiente envolvente do bebê [3, 7].

Uma vez completamente desenvolvido, a composição do microbiota intestinal mantém-se estável ao longo da vida. Porém, existem inúmeros fatores que têm o potencial de influenciar a sua composição e a sua atividade, como por exemplo, a genética do hospedeiro, o envelhecimento, terapêuticas com antibióticos, processos inflamatórios, mudanças na dieta, motilidade do TGI, secreções do hospedeiro e também, outros micro-organismos como os probióticos [2, 3].

1. Composição e Distribuição

O microbiota humano é composto principalmente por bactérias, mas inclui também Arqueas, vírus, fungos e protozoários. Estes micro-organismos cobrem essencialmente todas as superfícies mucosas do hospedeiro, mas a sua larga maioria reside no TGI. No total, o microbiota intestinal consiste em aproximadamente 500 – 1000 espécies que pertencem a apenas alguns dos filos de bactérias conhecidos. Os filos bastante mais abundantes no intestino humano são Firmicutes e Bacteroidetes, mas outras espécies presentes pertencem aos filos Proteobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria, Fusobacteria e Cyanobacteria.

Verificam-se dois gradientes na distribuição microbiana pelo TGI: primeiro, a densidade microbiana aumenta da porção do trato proximal para a distal, como demonstrado na Tabela I, e também ao longo do eixo tecido-lúmen (com poucas bactérias no tecido, mas um elevado número presente no lúmen); depois, a diversidade bacteriana aumenta da mesma forma que a densidade microbiana, ou seja, muitas espécies estão presentes no lúmen, enquanto que

poucas espécies, mas muito bem adaptadas, incluindo várias proteobacterias e a *Akkermansia muciniphila* (filo Verrucomicrobia), aderem e residem na camada de muco adjacente ao tecido [6].

Tabela 1. Distribuição do microbiota no TGI. (Adaptado de [6, 8])

Localização	Micro-organismos por grama de conteúdo intestinal	Notas
Estômago	10^1	Peristaltismo e inibição da adesão pelos ácidos gástricos e biliares, prevenindo a colonização
Duodeno	10^3	
Jejuno	10^4	Fermentação de hidratos de carbono (provavelmente)
Íleo	10^7	
Intestino Grosso	$<10^{12}$	Localização corporal da maioria das atividades microbiotas

Cada pessoa apresenta uma “impressão digital” bacteriana distinta e diferente de todos os outros [8], ou seja, a composição do microbiota varia significativamente entre indivíduos [6], contudo, existe um núcleo (*core*) estável, composto por poucas espécies (mas prevalentes), importante para a manutenção da homeostase e da função do microbiota intestinal [2, 9, 10].

O microbiota intestinal saudável contém uma composição equilibrada de várias classes de bactérias, incluindo: comensais, que fornecem nutrientes, ajudam a digerir compostos e defendem o hospedeiro contra a colonização de patógenos oportunistas; patobiontes, micro-organismos que sob certas condições, podem provocar doença; e os patógenos, que são micro-organismos oportunistas, que não fazem parte do microbiota intestinal normal [2, 11]. O equilíbrio entre estes grupos de micro-organismos é crucial para que o hospedeiro se mantenha saudável, pois quando é perturbado, a relação hospedeiro-microbiota pode desencadear um estado de doença para o hospedeiro [3].

A caracterização do microbiota nos indivíduos saudáveis é um importante passo na compreensão da sua influência no estado de saúde do hospedeiro [12].

2. Funções do Microbiota Intestinal

O intestino é uma das principais superfícies de contacto com agentes exógenos no corpo humano, tendo assim um importante papel na defesa do hospedeiro contra estas agressões externas, por meio da mucosa intestinal, do sistema imune local e pelas interações com o

microbiota intestinal. O microbiota intestinal possui, assim, impacto na saúde humana, através da sua influência na parede intestinal, na função imune, na utilização de nutrientes e, possivelmente, através de mecanismos de sinalização direta com o epitélio gastrointestinal.

O microbiota intestinal pode então ser identificado como um “órgão” ativo que está envolvido em diferentes processos [3] com efeitos positivos para o organismo, como:

2.1 Participação na formação da parede intestinal

As células gastrointestinais que constituem o epitélio assim como o muco presente participam na defesa do hospedeiro através da circulação sanguínea e das secreções da mucosa (mucinas, peptídeos e fosfolípidos surfactantes), das funções das células epiteliais (por exemplo, o fecho das *tight junctions*) e da produção de peptídeos antimicrobianos [3, 8].

A camada de muco representa um *habitat* microbiano seletivo, devido à aderência através de lectinas e glicosidases apenas expressas por bactérias específicas, e também por servir de fonte de nutrientes [6].

Estudos em que se compararam animais criados em ambientes estéreis com animais criados convencionalmente revelaram que os micro-organismos têm imensa influência na espessura do muco e na sua composição. Os animais criados em ambiente estéril apresentavam menos células produtoras de muco e, como tal, uma camada mais fina de muco, e demonstraram-se mais suscetíveis a infeções, evidenciando a importância do microbiota como constituinte da parede intestinal [3, 6].

2.2 Resistência à colonização de patógenos

Este fenómeno deve-se ao facto de as bactérias na mucosa intestinal competirem para os mesmos locais de aderência, usarem os mesmos nutrientes que as bactérias patogénicas. As bactérias comensais produzem ainda vários compostos antibacterianos que inibem a crescimento de patógenos e outras bactérias transitórias, que não são membros do microbiota intestinal residente [3, 8].

2.3 Produção de ácidos gordos de pequena cadeia e de vitaminas

O microbiota intestinal é essencial para processar polissacáridos, afetando a captação de energia proveniente da dieta. Assim, as bactérias comensais fornecem energia adicional na forma de ácidos gordos de pequena cadeia (SCFA – *short chain fatty acids*), como o acetato, o propionato e o butirato. O acetato (ácido acético) é utilizado principalmente pelos tecidos periféricos e pode também ser usado pelos adipócitos na lipogénese, o propionato (ácido propiónico) é um precursor importante na neoglucogénese no fígado e o butirato (ácido

butírico) é maioritariamente metabolizado pelo epitélio intestinal, como principal fonte de energia, fornecendo entre 60 a 70% da energia necessária e sendo importante para a manutenção da saúde da mucosa no intestino [3, 8].

Também a absorção de alguns elementos como o cálcio, o magnésio e o fósforo é melhorada pela fermentação de hidratos de carbono e pela produção de SCFA e redução de pH. Esta acidificação do ambiente intestinal também inibe o desenvolvimento e colonização de patógenos ou bactérias indesejáveis.

Vários membros do microbiota intestinal são também capazes de produzir vitaminas e fornecê-las ao hospedeiro, principalmente vitamina K e algumas vitaminas B [3].

2.4 Contribuição para a homeostase proteica

As bactérias comensais contribuem ainda para a homeostase proteica humana, sendo que algumas das necessidades de aminoácidos são supridas por síntese microbiana. Em contraste, a fermentação dos aminoácidos pode levar à produção de uma variedade de substâncias tóxicas como substâncias indutoras e promotoras de tumores [3].

2.5 Interação com o sistema imune da mucosa

O sistema imune intestinal é um elemento essencial da defesa do hospedeiro contra micro-organismos patogénicos [3, 8].

O microbiota intestinal fornece um importante estímulo para o desenvolvimento da imunidade do hospedeiro e regula a imunidade inata e adaptativa. No momento do parto, o sistema imune do recém-nascido é imaturo e vai-se desenvolvendo com a exposição gradual ao microbiota intestinal (que também se está a formar), aumentando o número de placas de Peyer e as células produtoras de imunoglobulinas (linfócitos B). O sistema imune inato permite que o hospedeiro percecione o ambiente microbiano, de modo a promover a libertação de moléculas sinalizadoras e iniciar a resposta imune, se necessário [3, 6].

Deste modo, é crucial que o sistema imune reconheça o microbiota como tal e lhe seja tolerante [8]. Tal é conseguido através da existência de moléculas denominadas “padrões moleculares associados a micróbios” (MAMPs – *microbe-associated molecular patterns*), presentes nas bactérias comensais e que não desencadeiam respostas pro-inflamatórias. Já os “padrões moleculares associados a patógenos” (PAMPs – *pathogen-associated molecular patterns*) são reconhecidos pelo epitélio e monócitos, e ativam os mecanismos de defesa do hospedeiro [3, 7].

2.6 Degradação de xenobióticos

Algumas das bactérias do microbiota conseguem ainda degradar xenobióticos, uma vez que possuem genes que codificam enzimas com atividade catabólica nestes compostos [8].

Estas funções dependem então da composição do microbiota e das suas complexas interações com o hospedeiro e outros fatores, tendo portanto implicações importantes na saúde e na nutrição humana [3].

As interações do microbiota intestinal são complexas e fluidas, capazes de se ajustar a perturbações fisiológicas que acontecem no dia-a-dia. Contudo, grandes ou seletivas perturbações no microbiota intestinal, como consequência de alterações na dieta, terapêuticas do hospedeiro ou outras mudanças no seu ambiente, podem prejudicar as relações microbiota-hospedeiro ou entre os micro-organismos do microbiota e desencadear processos patológicos levando a estados de doença. Exemplo disto são as alterações de composição do microbiota, com a perda de micro-organismos benéficos, e dos seus metabolitos, e o surgimento de outros micro-organismos promotores de doença e que produzem metabolitos e mediadores pro-inflamatórios que vão influenciar negativamente o intestino e outros órgãos [5].

Tendo como alvo o microbiota intestinal, têm-se usado várias intervenções para reverter a disbiose (desequilíbrio na composição ou funções do microbiota que leva à perturbação da homeostase hospedeiro-microbiota [6]) e/ou manter e melhorar a saúde do hospedeiro: antibióticos, **probióticos**, prebióticos, transplantação fecal, moduladores imunes e terapêutica com fagos [9].

PROBIÓTICOS

Os probióticos têm sido utilizados desde que os nossos ancestrais começaram a consumir produtos lácteos fermentados. No entanto, a sua associação com possíveis efeitos benéficos para a saúde data apenas do início do século passado [13], quando em 1905, o cientista russo Ilya Metchnikoff, Prémio Nobel da Medicina e conhecido como “o pai dos probióticos modernos”, sugeriu que as vidas longas e saudáveis dos aldeãos búlgaros se deviam não aos iogurtes por eles consumidos, mas sim aos micro-organismos utilizados para fermentar esses iogurtes e que estes se encontravam presentes no intestino humano [11, 14, 15].

1. Conceito

O termo probiótico deriva do grego e significa “pró-vida” (por oposição ao termo antibiótico que significa “contra a vida” [16]) e é usado para definir organismos não patogénicos vivos e os seus derivados efeitos benéficos nos hospedeiros [1]. Várias definições têm sido propostas ao longo do tempo. Contudo, numa conferência para chegar a um consenso do âmbito e da utilização adequada do uso do termo probiótico, organizada em 2013 pela *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (FAO) e pela *World Health Organization* (WHO), a definição foi revista: probióticos são, então, “micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro”.

Também nesta conferência foram definidas três grandes categorias de probióticos: aqueles sem qualquer alegação de saúde (reconhecidos como seguros, sem prova de eficácia necessária); os presentes em suplementos alimentares, com alegações de saúde específicas (estirpe usada definida, evidências de eficácia provada com ensaios clínicos ou meta-análise); e fármacos probióticos (ensaios clínicos para uma doença ou indicação específica, estirpe usada definida, relação benefício-risco justificada e padrões normais de regulamentação dos fármacos) [17].

2. Critérios de Seleção

Uma das primeiras “barreiras” que os probióticos têm de ultrapassar é a acidez gástrica, devido à presença de HCl (ácido clorídrico), assim como, os ácidos biliares. A seleção inicial de probióticos inclui também a pesquisa de estabilidade da estirpe, propriedades de aderência ao epitélio intestinal, padrões de utilização de hidratos de carbono e proteínas, produção de substâncias antimicrobianas, padrões de resistência a antibióticos, capacidade de inibir patogénios conhecidos e imunogenicidade. A Tabela 2 sumaria as propriedades e respetivos

benefícios de estirpes probióticas ideais. É então necessário que a estirpe probiótica sobreviva, prolifere e colonize no local para que é destinada. Também não deve ser nem patogénica, nem capaz de despoletar respostas imunes no hospedeiro, mesmo que sirva como adjuvante na estimulação do sistema imune contra patogénios. Por último, para propósitos comerciais, a cultura em larga-escala deve ser realizável e deve resistir às manipulações tecnológicas necessárias, sendo muito importante que estes micro-organismos sejam viáveis após armazenamento e ativos nos veículos em que são incorporados [2, 18, 19].

Tabela 2. *Propriedades e Benefícios de Estirpes Probióticas Ideais. (Adaptado de [18])*

Propriedades	Benefícios
Resistência a enzimas pancreáticas, ácidos gástrico e biliar	Sobrevivência à passagem pelo TGI
Aderência à mucosa intestinal	Imunomodulação, exclusão competitiva de patogénios, regeneração da mucosa intestinal danificada, colonização transiente prolongada
Origem humana	Efeitos benéficos para a saúde dependentes da espécie e manutenção da viabilidade
Produção de substâncias antimicrobianas	Antagonismo de micro-organismos patogénios
Efeitos benéficos para a saúde bem documentados	Efeitos benéficos para a saúde “verdadeiros”: validados com ensaios clínicos e dosagens mínimas efetivas documentadas
Não-patogénica	Reconhecida como segura (GRAS – <i>Generally Recognised as Safe</i>) com “história de utilização segura” e segurança no alimento; não patogénica mesmo em indivíduos imunocomprometidos
Boas propriedades tecnológicas	Estabilidade da estirpe, produção a larga escala, tolerância ao oxigénio

3. Probióticos comumente utilizados

Muitos tipos de bactérias têm propriedades probióticas, contudo, as mais documentadas e utilizadas são as bactérias produtoras de ácido láctico (LAB – *lactic acid bacteria*), pertencentes ao filo Firmicutes. Também o género *Bifidobacterium*, apesar de pertencente ao filo Actinobacteria, é considerado como LAB, uma vez que possui algumas das mesmas características, como a produção de ácido láctico [2, 18]. Estirpes pertencentes aos géneros

Lactobacillus e *Bifidobacterium*, que são as predominantes também no microbiota gastrointestinal, são as mais utilizadas e incluídas em diversos alimentos funcionais e suplementos alimentares [20, 21]. Estas bactérias são, segundo a FDA (*Food and Drug Administration*) Americana, reconhecidas como seguras (GRAS) [4] e são, na sua maioria, isoladas de produtos lácteos fermentados. Outros géneros também utilizados são, por exemplo, *Enterococcus* e *Streptococcus* [21]. A Tabela 3 sumaria as espécies de LAB mais utilizadas em preparações probióticas.

Os probióticos também podem pertencer a outros géneros não LAB, como é o caso de bactérias pertencentes aos géneros *Bacillus*, *Propionibacterium* e algumas estirpes de *Escherichia coli*. Além de bactérias também as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces boulardii* têm sido utilizadas [4, 21].

As preparações probióticas podem apresentar-se na forma de iogurtes, bebidas fermentadas, saquetas, pós, cápsulas, pastas ou *sprays* consoante a finalidade da administração e o probiótico a utilizar [4, 15].

Tabela 3. Espécies de LAB mais comumente utilizadas em preparações probióticas. (Adaptado de [4, 22])

<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>Bifidobacterium</i> sp.	<i>Enterococcus</i> sp.	<i>Streptococcus</i> sp.
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. cremoris</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>S. salivarius</i>
<i>L. delbrueckii (bulgaricus)</i>	<i>B. animalis</i>		<i>S. diacetylactis</i>
<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. infantis</i>		<i>S. thermophilus</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. thermophilum</i>		
<i>L. lactis</i>	<i>B. longum</i>		
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. brevis</i>			

3.1 *Lactobacillus* spp.

Este género possui cerca de 145 espécies e é reconhecido pela sua diversidade filogenética, fenotípica e ecológica [23]. As bactérias deste género são parte do microbiota humano e, enquanto probióticos, têm potencial para reverter a disbiose, podendo ser recomendados para a prevenção de doenças e/ou melhoria da imunidade [24].

Estas bactérias possuem nos seus genomas, genes específicos para a sua adaptação quer no hospedeiro, como no veículo em que se inserem, como é o caso de *L. delbrueckii, bulgaricus* sp. e *L. helveticus*, normalmente encontrados em iogurtes e outros produtos lácteos, que

possuem vários genes que lhes permitem o crescimento em lactose. Já outras espécies revelaram a existência de proteínas que se ligam ao muco, sugerindo assim a sua adaptação para a mucosa intestinal [23].

3.2 *Bifidobacterium* spp.

Também as bactérias deste género são habitantes normais do TGI humano e são o género mais abundante no intestino saudável dos bebés e crianças. Durante o desenvolvimento para a idade adulta os níveis vão diminuindo, mas mantêm-se relativamente estáveis, decrescendo novamente em idades mais avançadas. Esta diminuição tem sido associada à menor capacidade de aderência à mucosa intestinal.

Estas bactérias são normalmente conhecidas pela sua capacidade de regular o trânsito intestinal [25]. O uso destas espécies, tal como de *Lactobacillus* spp., enquanto probióticos tem sido suportado pela história de longo consumo em produtos lácteos fermentados e pelo conhecimento crescente acerca da sua fisiologia e genoma [26]. A sequenciação do genoma permitiu verificar a adaptação genética que estas espécies têm para o intestino humano e evidenciou a existência de moléculas responsáveis pela colonização e sobrevivência no intestino humano, possuindo enzimas codificadas no seu material genético que lhe permitem degradar hidratos de carbono e glicoproteínas, beneficiando tanto o hospedeiro como a própria bactéria. Estas bactérias possuem ainda a capacidade de sobreviver em condições de stress, como a exposição aos ácidos gástricos e intestinais e stress osmótico, modificando a expressão de genes e, conseqüentemente, os processos e estruturas celulares [23].

4. Benefícios para a saúde – Mecanismos de Ação

Os probióticos têm alvos de ação específicos, podendo então atuar ao nível das interações micróbio-epitélio intestinal, micróbio-sistema imune ou micróbio-micróbio. Considerando estes possíveis alvos, os probióticos serão estruturados e aplicados em doenças específicas, baseados nas suas características e efeitos benéficos [3].

Estes micro-organismos nem sempre têm de colonizar o TGI para exercer os seus efeitos: alguns probióticos, como por exemplo *Bifidobacterium longum*, tornam-se parte do microbiota intestinal, já outros, como *Lactobacillus casei*, exercem os seus efeitos de forma transitória, ou seja, enquanto passam pelo TGI, influenciando a comunidade microbiana existente [27].

Os mecanismos subjacentes aos efeitos benéficos dos probióticos são ainda um pouco desconhecidos, mas são provavelmente multifatoriais [20]. A sua ação pode ser direta, relacionada com a sua colonização gastrointestinal, ou indireta, devido a espécies/estirpes moduladoras do microbiota [21].

Assim, diferentes estirpes de probióticos podem estar associadas a diferentes efeitos na saúde, consoante as suas capacidades específicas [19]: podem influenciar o ambiente do lúmen intestinal, a função barreira da mucosa e epitélio e/ou o sistema imune da mucosa [28].

Na Tabela 4 estão esquematizados os principais mecanismos de ação conhecidos dos probióticos no hospedeiro, enquanto que, na Figura 1 estão representados esquematicamente alguns desses mecanismos.

Tabela 4. Principais mecanismos de ação dos Probióticos. (Adaptado de [21, 27, 28])

Modulação do Microbiota do Hospedeiro
Diminuição do pH do lúmen
Secreção de peptídeos antimicrobianos
Inibição da invasão bacteriana
Bloqueio da aderência bacteriana às células epiteliais
Melhoria da Função Barreira
Aumento da produção de muco
Melhoria da integridade da mucosa
Imunomodulação
Efeitos nas células epiteliais
Efeitos nas células dendríticas
Efeitos nos monócitos/macrófagos
Efeitos nos linfócitos (linfócitos B, T, células NK, redistribuição linfócitos T)
Interferência no Quorum Sensing

4.1 Modulação do Microbiota Intestinal

Os probióticos podem induzir as células do epitélio intestinal do hospedeiro a produzir peptídeos ou podem eles libertar peptídeos que vão interferir com os patogénios e impedir a invasão do epitélio intestinal. As defensas são peptídeos antimicrobianos expressados constitutivamente pelas células epiteliais do intestino e apresentam atividade contra uma ampla variedade de bactérias, fungos e alguns vírus. Também os probióticos inibem o crescimento de patogénios através da libertação de fatores antimicrobianos como defensas, bacteriocinas, peróxido de hidrogénio, óxido nítrico e SCFA, como os ácidos láctico e acético, fatores estes que reduzem o pH do lúmen intestinal. Os SCFA são capazes de perturbar as membranas externas de patogénios Gram-negativos, inibindo o seu crescimento. Já as bacteriocinas conseguem permeabilizar a membrana interna dos patogénios, levando à formação de poros e inibição da síntese da parede celular [20, 21, 27-29].

Os probióticos excluem ainda os patogénios dos locais de ligação no epitélio e no muco intestinal por exclusão competitiva, ou seja, os probióticos competem mais vigorosamente para os locais de ligação que os patogénios. Esta exclusão é conseguida pela criação de um microambiente hostil para o patogénio (pela diminuição de pH e secreção de substâncias antimicrobianas), pela eliminação de locais de ligação disponíveis e também pela competição para os nutrientes essenciais [20, 27, 29].

4.2 Melhoria da Função Barreira

Se esta função for perturbada, os antigénios bacterianos e até os dos alimentos poderão alcançar a submucosa e induzir processos inflamatórios que podem resultar em doenças intestinais [20].

Esta função está relacionada com as *tight junctions* entre as células epiteliais do intestino. Também as células produtoras de muco participam nesta função, já que o muco age como camada protetora, prevenindo o contacto direto com as bactérias do lúmen intestinal. Assim, os probióticos podem atuar ao nível da estimulação do aumento da camada de muco ou da produção de defensinas, assim como das proteínas que compõem as *tight junctions*, melhorando a função fisiológica da barreira [21].

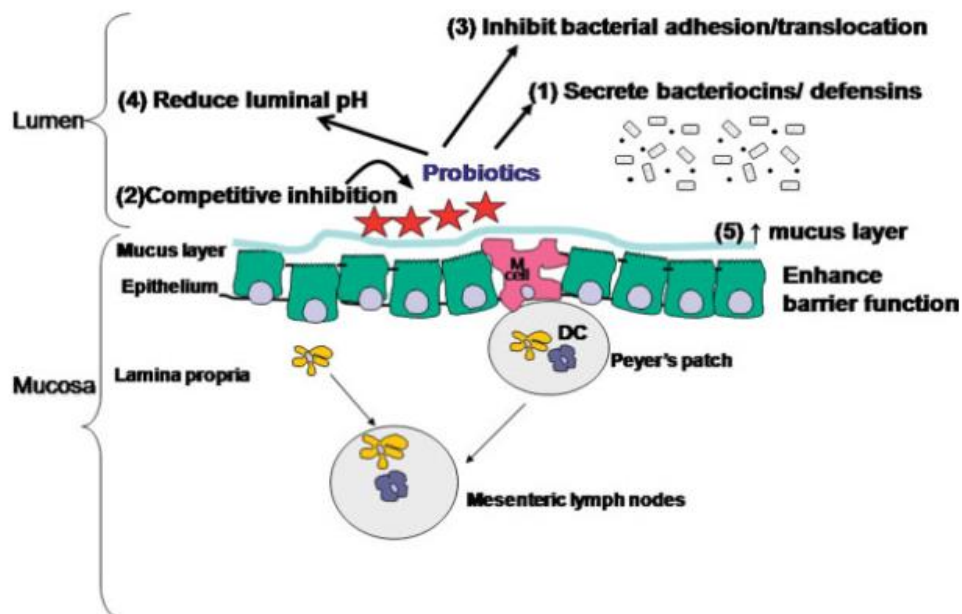


Figura 1. Representação esquemática de algumas das interações entre bactérias probióticas e a mucosa intestinal. (Adaptado de [28])

4.3 Imunomodulação

Mais de 70% das células imunes estão localizadas ao nível do intestino, formando o tecido linfoide associado ao intestino (GALT – *gut associated lymphoid tissue*) [21]. Os probióticos são então capazes de estimular, assim como regular, as respostas imunes inata e adquirida, ao interagirem com o GALT [28].

Ao nível das células epiteliais, os probióticos têm capacidade de: induzir a produção de proteínas citoprotetivas *heat shock*, ajudando a manter o bom funcionamento das *tight junctions* entre as suas células epiteliais; modular as cascatas de sinalização inflamatórias; e regular a apoptose, melhorando a sobrevivência das células intestinais e promovendo a sua proliferação para recuperar danos no epitélio. Já ao nível das células dendríticas, algumas estirpes de *Lactobacillus* spp. induzem a sua maturação. Estas células conseguem, através das suas dendrites, passar as *tight junctions* do epitélio e capturar antígenos do lúmen intestinal e, juntamente com a sua capacidade de regular os linfócitos T, estimular a secreção de interleucinas importantes para processos inflamatórios e para a resposta imune [8, 28]. Os monócitos e macrófagos estimulam uma resposta secundária mediada pelos linfócitos T, tendo a sua atividade regulada também por alguns probióticos. Assim, os linfócitos podem ser afetados diretamente por probióticos ou indiretamente através de estímulos induzidos pelas células dendríticas ou macrófagos, podendo, por exemplo, estimular a produção de anticorpos pelos linfócitos B [28].

Deste modo, os probióticos podem ligar-se a recetores na superfície das células epiteliais do intestino, induzindo respostas imunes humoral e celular, podendo induzir respostas pro- e anti-inflamatórias. Alguns deles têm, portanto, a capacidade de estimular respostas imunes protetoras suficientes para melhorar a resistência a patógenos [3].

4.4 Interferência no Quorum Sensing

As bactérias são capazes de comunicar entre si, assim como, com o ambiente circundante, através de moléculas sinalizadoras – *quorum sensing*. O uso deste mecanismo sinalizador facilita a regulação de importantes características das bactérias, que lhes permite colonizar e/ou começar uma infeção com sucesso no seu hospedeiro.

Lactobacillus acidophilus secreta uma molécula que inibe o *quorum sensing* ou interage diretamente com a transcrição de genes de virulência de patógenos [27].

Deste modo, alguns dos efeitos benéficos do consumo de probióticos incluem: melhoria da saúde do TGI pela regulação do microbiota (prevenindo diarreias e obstipação) e estimulação e desenvolvimento do sistema imune, síntese e melhor biodisponibilidade de

nutrientes (já que muitos deles são constituintes do nosso microbiota normal, tendo as mesmas capacidades metabólicas), redução dos sintomas de intolerância à lactose e redução do risco de várias doenças, como alergias, infecções e outras doenças intestinais [1, 3]. Em relação à diminuição da intolerância à lactose, existem evidências de que algumas estirpes de LAB, em quantidades adequadas, têm a capacidade de aliviar os sintomas da intolerância à lactose. *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* e outras LAB utilizadas em produtos lácteos fermentados são capazes de fornecer a lactase necessária para que a lactose ingerida seja degradada, prevenindo assim os sintomas em indivíduos sem capacidade para a digerir [4, 18].

5. Exemplos de benefícios em doença

Apesar de a EFSA (*European Food Safety Authority*) ter, recentemente, recusado as alegações de saúde para todos os probióticos comercializados na Europa devido a provas insuficientes, estudos laboratoriais e ensaios clínicos têm sido feitos para avaliar a segurança e a eficácia dos probióticos no tratamento e prevenção de algumas patologias [21, 27].

Nesta monografia, apenas refiro algumas das doenças em que os probióticos podem ter um potencial efeito benéfico enquanto terapêutica.

5.1 Diarreia associada a antibióticos e *Clostridium difficile*

Uma complicação comum à terapêutica com antibióticos é o desenvolvimento de diarreia associada a antibióticos (AAD – *antibiotic-associated diarrhea*). Os agentes antimicrobianos alteram o equilíbrio do microbiota saudável, desencadeando a diarreia e emergência de algumas espécies patogênicas como *Clostridium difficile* (Figura 2) [3].

Clostridium difficile disease progression

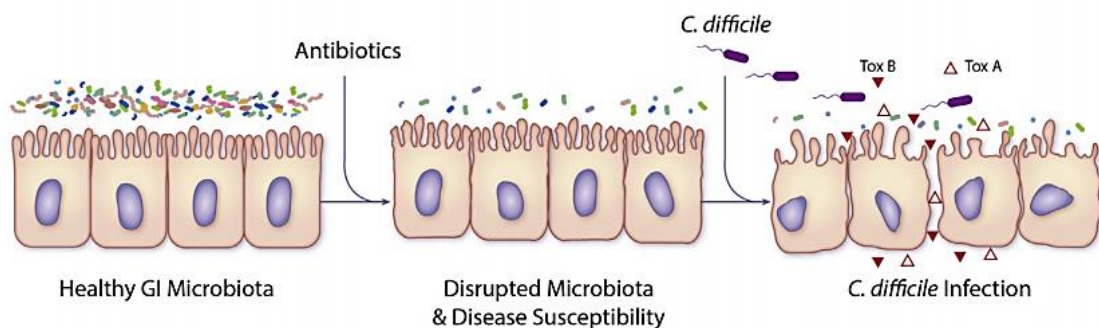


Figura 2. O desequilíbrio do microbiota intestinal por ação de antibióticos aumenta a susceptibilidade para infecção por *C. difficile*. (Adaptado de [30])

C. difficile é um bacilo Gram-positivo, anaeróbico e produtor de esporos, que causa infecção com diarreia e colite. A doença associada a *C. difficile* (CDAD – *C. difficile-associated disease*) pode manifestar-se desde AAD suave a colite pseudomembranosa, podendo levar à morte. Esta condição é causada pela ação de duas toxinas, (entero)toxina A e (cito)toxina B, produzidas por várias estirpes patogênicas de *C. difficile*. CDAD é normalmente tratada com antibióticos como a vancomicina e o metronidazole, e, apesar de não se verificar resistência a estes antibióticos, a recorrência da infecção é frequente, sendo um dos aspetos mais desafiantes da doença [27, 31, 32]. Também muito preocupante é o uso profilático destes mesmos antibióticos para prevenir a infecção, já que estes antimicrobianos vão perturbar ainda mais o microbiota, aumentando o risco de desenvolver CDAD [30].

A incidência e severidade de CDAD têm vindo a aumentar na última década, o que juntamente com a elevada recorrência da infecção, faz com que haja uma necessidade substancial de aproximações mais efetivas à prevenção e terapêutica desta infecção [27].

Deste modo, os probióticos têm um grande potencial no tratamento adjuvante com terapêutica antibacteriana, quer como prevenção de infecção primária como de recorrente (Figura 3) [30, 33]. Os mecanismos propostos para a ação dos probióticos na CDAD são atividade antimicrobiana, proteção da barreira intestinal, imunomodulação e alteração do microbiota intestinal [32].

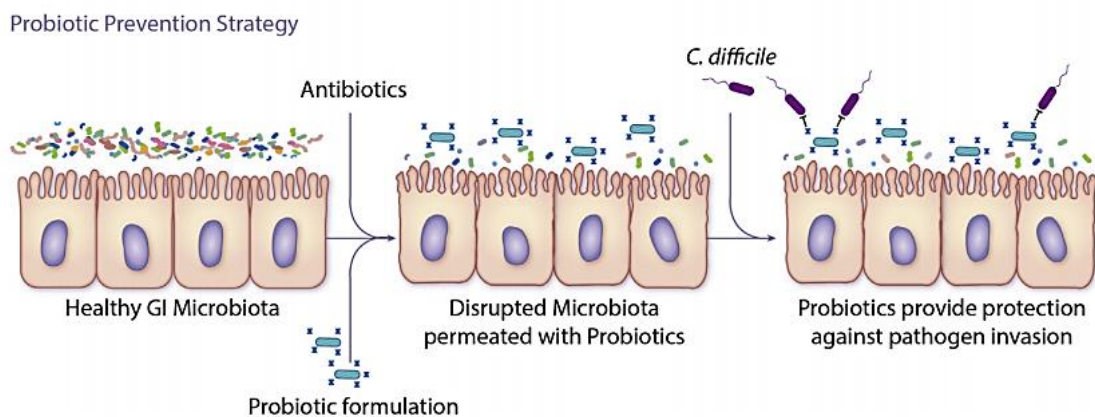


Figura 3. A terapêutica adjuvante com probióticos fornece proteção contra a infecção por *C. difficile*, ao estabilizar o microbiota do TGI, protegendo o hospedeiro através de vários mecanismos e prevenindo a invasão do patógeno. (Adaptado de [30])

Vários artigos de revisão e meta-análise têm suportado a utilização de probióticos na prevenção, tratamento e/ou prevenção da recorrência da infecção por *C. difficile*. Estes estudos demonstram uma vez mais que os efeitos são dependentes da estirpe utilizada. Foram avaliadas formulações de uma só estirpe, como é o caso de *L. plantarum* 299v (Sanprobi IBS®), *L. rhamnosus* GG e *S. boulardii*, e formulações compostas por várias estirpes, como, por exemplo,

a VSL#3 (*B. breve*, *B. longum*, *B. infantis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. bulgaricus* e *S. thermophilus*), o Actimel® (*L. casei imunitass* DN-114, *L. bulgaris* e *S. thermophilus*) e a Lifeway® Kefir (*B. breve*, *B. lactis*, *B. longum*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *Leuconostoc cremoris*, *Saccharomyces florentinus* e *S. diacetylactis*). À exceção desta última formulação e da levedura *S. boulardii*, que possuem evidências de eficácia no tratamento e prevenção de recorrência, todas as outras possuem evidência apenas para a prevenção primária [21, 27, 30, 33].

Como a CDAD é uma condição associada ao desequilíbrio do microbiota intestinal, é lógico que as estratégias de tratamento passem pela reconstituição/restauração da mesma [31]. Contudo, os resultados das meta-análises devem ser interpretados cuidadosamente, devido, muitas das vezes, ao número insuficiente de casos analisados, sendo necessário mais estudos, até para otimizar doses a administrar e duração de tratamento [21].

5.2 Doença Inflamatória do Intestino

A doença inflamatória do intestino (IBD – *Inflammatory Bowel Disease*) é uma doença crónica e multifatorial que provoca dejeções líquidas com sangue acompanhadas de dores abdominais. Esta doença afeta tanto o intestino delgado como o grosso e inclui a Colite Ulcerosa (UC) e a Doença de Crohn (CD). A UC e a CD diferem na localização intestinal e nas características da inflamação. Assim, a UC afeta o intestino grosso e recto e a inflamação é normalmente contínua (podendo ser um fator de risco para cancro do cólon), enquanto que a CD afeta normalmente o intestino, mas pode afetar todo o TGI, e a inflamação usualmente é descontínua, alternando entre períodos de fase aguda e outros de remissão [1, 21, 34, 35].

Apesar de a etiologia exata ser desconhecida, existem evidências crescentes de que a IBD é o resultado de uma complexa resposta inflamatória a algum fator ambiental, as bactérias do lúmen por exemplo, em indivíduos geneticamente predispostos. Outros fatores potencialmente envolvidos são o desequilíbrio do sistema imune, a diversidade do microbiota intestinal e stress oxidativo [1, 21, 36]. Estudos da composição do microbiota de indivíduos com IBD demonstraram, de facto, que esta patologia está associada a uma diminuição da abundância de LAB e *Bifidobacterium* spp. e a um aumento de *Escherichia* spp. e outros coliformes [34].

A terapêutica convencional tem-se focado na inflamação e na supressão da resposta imune exagerada, através de esteroides, tiopurinas e anticorpos anti-fator de necrose tumoral. Apesar de estes agentes terem eficácia razoável, podem apresentar efeitos adversos (infecções sérias e mutagenicidade) [36].

Devido à incidência crescente desta patologia, aos efeitos secundários da terapêutica convencional e ao facto do microbiota intestinal ter um papel crucial na patologia da IBD, terapêuticas alternativas/adjuvantes que possam alterar ou reconstituir o equilíbrio do microbiota intestinal e eliminar antígenos bacterianos, como é o caso dos probióticos, fazem todo o sentido [21, 36].

Os mecanismos propostos para os efeitos benéficos dos probióticos incluem a produção de substâncias antimicrobianas, a competição exclusiva com possíveis patogénios, o melhoramento da função barreira do intestino e imunomodulação (alterações no perfil de citocinas pro- e anti-inflamatórias produzidas) [2].

5.2.1 Colite Ulcerosa (UC) e Pouchite

Algumas revisões sistemáticas e meta-análises têm sugerido a eficácia de algumas estirpes de probióticos para a UC, como por exemplo *E. coli* Nissle 1917, VSL#3, *S. boulardii* e *L. reuteri*, em manter a remissão ou no tratamento de UC suave a moderada [27, 35-37]. Contudo, outros estudos têm sido menos favoráveis [36].

Cerca de 60% dos indivíduos com UC que realizaram uma anastomose ileo-anal, desenvolvem inflamação na bolsa ileal. A esta inflamação sintomática e crónica dá-se o nome de pouchite. Esta condição pode provocar urgência fecal, aumento da frequência nas dejeções, dores abdominais e hematoquesia [1, 36]. Também nesta situação têm sido analisados os benefícios da utilização de probióticos. Aquele que mais tem sido avaliado é o VSL#3 e tem demonstrado de facto, benefícios clínicos, na prevenção primária e na redução de recorrência [21, 36].

Apesar dos efeitos positivos e do potencial benéfico dos probióticos, para a UC, estes resultados devem ser, mais uma vez, analisados cuidadosamente, devido a limitações nos estudos realizados, juntamente com reduzidas amostras analisadas, variação nas doses e na duração dos tratamentos e diferenças nas estirpes utilizadas. Já para a pouchite, existem boas evidências para a recomendação de probióticos a indivíduos que tenham uma recorrência frequente da doença [36].

5.2.2 Doença de Crohn

Várias estirpes têm sido avaliadas para a CD, como *E. coli* Nissle 1917, *S. boulardii* e *L. rhamnosus* GG, e demonstrado potencial, no entanto, não existem estudos suficientes e evidências significativas que demonstrem os efeitos benéficos dos probióticos para esta indicação [21, 36, 38].

Contudo, investigações do microbiota associado à mucosa em indivíduos com a CD demonstraram que a recorrência ao fim de seis meses estava associada a uma baixa proporção de *Faecalibacterium prausnitzii* (membro do filo Firmicute). Esta espécie é um importante membro do microbiota, sendo um dos maiores produtores de butirato para as células epiteliais e consegue sobreviver nas camadas mais internas de muco. Assim, estudos *in vitro* indicaram que uma estirpe de *F. prausnitzii* (HTF-F) era capaz de produzir uma matriz polimérica extracelular (EPM – *extracelular polymeric matrix*) e que esta estava envolvida na formação de biofilme na camada de muco intestinal. Estes estudos demonstraram também que tanto a estirpe como a EPM eram capazes de atenuar os sintomas clínicos de IBD num modelo de murino. Os mecanismos anti-inflamatórios ainda não estão bem identificados, porém, *F. prausnitzii* e a sua EPM têm assim uma potencial aplicação no tratamento da IBD [7].

5.3 Obesidade

A obesidade é uma das maiores preocupações da saúde pública da atualidade, tendo um maior impacto nas crianças e contribuindo para uma maior morbidade em adultos. Alguns dos fatores de risco para a obesidade infantil incluem a dieta, a obesidade materna, o ganho rápido de peso e atividade física reduzida [3].

Evidências recentes sugerem que o microbiota intestinal afeta a aquisição nutricional e a regulação de energia, e que indivíduos obesos e não-obesos possuem diferenças na composição dos seus microbiotas. Assim, o microbiota intestinal pode ter também um papel no desenvolvimento da obesidade [39]. Os primeiros estudos sobre a relação entre a composição do microbiota intestinal com a obesidade demonstraram que tanto ratinhos como humanos obesos possuíam um maior número de bactérias do filo Firmicutes e um menor do filo Bacteroidetes, quando comparados com ratinhos e humanos não-obesos.

Os mecanismos associados à patologia da diabetes mediada pelo microbiota intestinal são, então: i) maior capacidade de captar energia, já que os SCFA produzidos na fermentação podem ser substratos energéticos ou reguladores metabólicos, aumentando a absorção de nutrientes e/ou o desenvolvimento de tecido adiposo; ii) elevados níveis de lipopolissacarídeos (LPS) no plasma (endotoxemia), sendo que os LPS são componentes da parede celular de bactérias Gram-negativas e são induzidos por dietas ricas em gorduras; e iii) inflamação crônica leve que pode também estar relacionada com a endotoxemia metabólica [40].

Deste modo, a modulação do microbiota intestinal tem sido considerada como potencial alvo para a terapêutica da obesidade [19] e alguns estudos têm investigado o papel dos probióticos nestas novas oportunidades terapêuticas [39].

Modelos animais mostraram que um microbiota anormal, muitas das vezes com baixos níveis de *Bifidobacterium* spp. e de *A. muciniphila* desencadeiam alterações na barreira intestinal, aumentando a permeabilidade e promovendo a translocação de LPS para a circulação, causando endotoxemia. Assim, em ratinhos em que se induziu obesidade através da dieta, e em que se administrou posteriormente *A. muciniphila*, verificou-se diminuição de LPS no plasma, diminuição da inflamação no tecido adiposo e aumento da expressão de peptídeos antimicrobianos, mostrando um grande potencial desta espécie enquanto probiótico para esta indicação [10].

Noutro estudo, a administração de leite fermentado com *Lactobacillus gasseri* SBT2055 a indivíduos com elevado IMC (índice de massa corporal) e elevado perímetro abdominal, verificou-se redução do peso corporal e do IMC, do perímetro abdominal, e da massa gorda visceral e subcutânea, enquanto que nenhum destes parâmetros diminui no grupo de controlo a que se administrou placebo [39, 40].

No entanto, estudos em animais têm revelado resultados mais promissores para a utilização de probióticos no tratamento da obesidade do que os estudos em humanos, sendo então necessário a realização de mais estudos bem desenhados para averiguar os efeitos de preparações de probióticos nesta condição [19]. Aproximações metagenómicas (o estudo das comunidades de micro-organismos baseado na sequenciação dos seus genomas, de forma a analisar a composição e as funções destes micro-organismos, numa determinada amostra ambiental [39]) devem ser realizadas de forma a elucidar as interações metabólicas entre o hospedeiro e o microbiota intestinal em indivíduos obesos, e que nos permita uma melhor utilização dos probióticos nesta condição [40].

PROJETO MICROBIOMA HUMANO E METAHIT

Por microbioma entende-se o conjunto dos genomas de todos os micro-organismos presentes em determinado ambiente, neste caso, no corpo humano [7].

Em 2005, o *International Human Microbiome Consortium* (IHMC) foi fundado com o objetivo de estabelecer esforços que permitissem a caracterização do microbioma humano e a análise do seu papel na saúde humana e na doença. Neste sentido, em 2008 foram fundados o Projeto Microbioma Humano (HMP – *Human Microbiome Project*) (Figura 4), pelo *National Institutes of Health* (Estados Unidos da América) e o MetaHIT (*Metagenomics of the Human Intestinal Tract*), pela União Europeia (Figura 5) [14].

A microbiologia tradicional tem-se focado no estudo de espécies individuais isoladas. Contudo a vasta maioria das espécies microbianas nunca foram isoladas com sucesso para análise, talvez porque o seu crescimento seja dependente de ambientes que ainda não foram reproduzidos experimentalmente. Assim, avanços nas tecnologias de sequenciação do DNA criaram um novo campo de pesquisa, a metagenómica, que permite a análise e examinação das comunidades microbianas sem que seja preciso cultivá-las.

Enquanto que o HMP caracteriza os microbiomas de diversos locais do corpo humano, como por exemplo, mucosa nasal, cavidade bucal, pele, TGI e trato urogenital [41], o MetaHIT foca-se, como o próprio nome indica, no microbioma intestinal humano [42].

O HMP já identificou mais de 40.000 espécies no cólon e está a criar perfis dos constituintes microbiológicos normais encontrados em humanos saudáveis. Estas novas ferramentas, permitem aos investigadores uma melhor compreensão de como o microbiota pode ser alterado por vários fatores e as formas de como as várias estirpes probióticas podem corrigir ou restaurar o equilíbrio [15].



Figura 4. Logotipo do HMP.
(Adaptado de [41])



Figura 4. Logotipo do MetaHIT.
(Adaptado de [42])

CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

Sabendo que o microbiota intestinal está intimamente ligado à saúde humana, intervenções que visem reverter a disbiose ou manter/melhorar a saúde do hospedeiro apresentam uma alternativa muito interessante às terapêuticas convencionais. Neste sentido, os probióticos apresentam um potencial imenso.

Em relação à segurança da utilização destes micro-organismos, espécies pertencentes a *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus* e leveduras são geralmente reconhecidas com seguras pela FDA [21]. Contudo, tal como com os medicamentos, os probióticos não têm o mesmo efeito em todos os indivíduos [24], sendo que estes agentes devem ser utilizados com algum cuidado em doentes bastante debilitados e em imunocomprometidos, já que, em casos raros, estes têm sido associados a sérios efeitos adversos como fungemia (provocada por *S. boulardii*) e sepsis bacteriana.

O estudo destes micro-organismos acaba por ser complicado devido ao facto de a eficácia destes agentes ser específica de uma dada estirpe, sendo que os efeitos de um probiótico (ou combinação) não poderão ser extrapolados para outro [39]. Tal deve-se ao facto de mecanismos mais comuns poderem ser observados entre quase todos os probióticos estudados (resistência à colonização de patógenos e a produção de SCFA, por exemplo), enquanto que outros são mais frequentemente verificados em probióticos dentro da mesma espécie (síntese de vitaminas, melhoria da função barreira do intestino), e ainda outros, mais raros, específicos de cada estirpe (efeitos imunomodulatórios) [17].

Deste modo, apesar dos resultados encorajadores, a eficácia e as indicações destes micro-organismos ainda não foram totalmente esclarecidas, sendo necessário um maior conhecimento sobre os mecanismos de ação pelos quais cada estirpe atua, de forma a direcioná-los para a indicação adequada e de forma a ter eficácia. Também os ensaios clínicos devem ser melhorados, analisando uma maior amostra, utilizando estirpes, doses e durações de tratamento bem definidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] PANDEY, K. R.; NAIK, S. R.; VAKIL, B. V. - **Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review.** *Journal of Food Science and Technology.* 52:12 (2015) 7577–7587.
- [2] MARTINEZ, R. C. R.; BEDANI, R.; SAAD, S. M. I. - **Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: An update for current perspectives and future challenges.** *The British Journal of Nutrition.* 10 (2015) 1–23.
- [3] COLLADO, M. C.; ISOLAURI, E.; SALMINEM, S.; SANZ, Y.. - **The Impact of Probiotic on Gut Health.** *Current Drug Metabolism.* 10:1 (2009) 68–78.
- [4] PARVEZ, S.; MALIK, K.; AH KANG, S.; KIM, H. Y. - **Probiotics and their fermented food products are beneficial for health.** *Journal of Applied Microbiology.* 100:6 (2006) 1171–1185.
- [5] SUN, J.; CHANG, E. B. - **Exploring gut microbes in human health and disease: Pushing the envelope.** *Genes & Diseases.* 1:2 (2014) 132–139.
- [6] SOMMER, F.; BÄCKHED, F. - **The gut microbiota - masters of host development and physiology.** *Nature Reviews Microbiology.* 11:4 (2013) 227–238.
- [7] THOMAS, L. V.; OCKHUIZEN, T.; SUZUKI, K. - **Exploring the influence of the gut microbiota and probiotics on health: a symposium report.** *British Journal of Nutrition.* 112:SI (2014) S1–18.
- [8] AURELI, P.; CAPURSO, L.; CASTELLAZZI, A. M.; CLERICI, M.; GIOVANNINI, M.; MORELLI, L.; POLI, A.; PREGLIASCO, F.; SALVINI, F.; ZUCCOTTI, G. V. - **Probiotics and health: An evidence-based review.** *Pharmacological Research.* 63:5 (2011) 366–376.
- [9] BÄCKHED, F.; FRASER, C.; RINGEL, Y.; SANDERS, M. E.; SARTOR, R. B.; SHERMAN, P. M.; VERSALOVIC, J.; YOUNG, V.; FINLAY, B. B. - **Defining a healthy human gut microbiome: current concepts, future directions, and clinical applications.** *Cell Host & Microbe.* 12:5 (2012) 611–622.
- [10] THOMAS, L. V.; SUZUKI, K.; ZHAO, J. - **Probiotics: a proactive approach to health. A symposium report.** *British Journal of Nutrition.* 114:SI (2015) S1–S15.
- [11] KONKEL, L. - **The environment within: exploring the role of the gut microbiome in health and disease.** *Environmental Health Perspectives.* 121:9 (2013) A276–281.
- [12] SHREINER, A. B.; KAO, J. Y.; YOUNG, V. B. - **The gut microbiome in health and in disease.** *Current Opinion in Gastroenterology.* 31:1 (2015) 69–75.

- [13] ANURADHA, S.; RAJESHWARI, K. - **Probiotics in health and disease.** Journal, Indian Academy of Clinical Medicine. 6:1 (2005) 67–72.
- [14] CÉNIT, M. C.; MATZARAKI, V.; TIGCHELAAR, E. F.; ZHERNAKOVA, A. - **Rapidly expanding knowledge on the role of the gut microbiome in health and disease.** Biochimica et Biophysica Acta. 1842:10 (2014) 1981–1992.
- [15] MCFARLAND, L. V. - **From Yaks to Yogurt: The History, Development, and Current Use of Probiotics.** Clinical Infectious Diseases. 60:S2 (2015) S85–S90.
- [16] CORCIONIVOSCHI, N.; DRINCEANU, D.; STEF, L.; LUCA, I.; JULEAN, C.; MINGYART, O. - **Probiotics – Identification and Ways of Action.** Innovative Romanian Food Biotechnology. 6:3 (2010) 1–11.
- [17] HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G. R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R. B.; FLINT, H. J.; SALMINEN, S.; CALDER, P. C.; SANDERS, M. E. - **Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic.** Nature reviews Gastroenterology & hepatology. 11:8 (2014) 1–9.
- [18] DALIRI, E. B.; LEE, B. H. - **New perspectives on probiotics in health and disease.** Food Science and Human Wellness. 4:2 (2015) 56–65.
- [19] NAGPAL, R.; KUMAR, A.; KUMAR, M.; BEHARE, P. V.; JAIN, S.; YADAV, H. - **Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review.** FEMS Microbiology Letters. 334:1 (2012) 1–15.
- [20] BERMUDEZ-BRITO, M.; PLAZA-DÍAZ, J.; MUÑOZ-QUEZADA, S.; GÓMEZ-LLORENTE, C.; GIL, A. - **Probiotic Mechanisms of Action.** Annals of Nutrition and Metabolism. 61 (2012) 160–174.
- [21] BUTEL, M.-J. - **Probiotics, gut microbiota and health.** Medecine et Maladies Infectieuses. 44:1 (2014) 1–8.
- [22] ZEREHPOOSH, S.; DARSANAKI, R. K. - **Probiotics and Health.** Journal of Biology and Today's World. 2:1 (2013) 15–19.
- [23] TURRONI, F.; VENTURA, M.; BUTTÓ, L. F.; DURANTI, S.; O'TOOLE, P. W.; O'CONNELL, M. - **Molecular dialogue between the human gut microbiota and the host : a *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* perspective.** Cellular and Molecular Life Sciences. 71:3 (2014) 183–203.
- [24] VAN BAARLEN, P.; WELLS, J. M.; KLEEREBEZEM, M. - **Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli.** Trends in Immunology. 34:5 (2013) 208–215.

- [25] PICARD, C.; FIORAMONTI, J.; FRANCOIS, A.; ROBINSON, T.; NEANT, F.; MATUCHANSKY, C. - **Review article: bifidobacteria as probiotic agents – physiological effects and clinical benefits.** *Alimentary Pharmacology and Therapeutics.* 22 (2005) 495–512.
- [26] ARBOLEYA, S.; WATKINS, C.; STANTON, C.; ROSS, R. P. - **Gut Bifidobacteria populations in human health and aging.** *Frontiers in Microbiology.* 7:8 (2016) 1–9.
- [27] GOGINENI, V. K.; MORROW, L. E.; MALESKER, M. A. - **Probiotics: Mechanisms of Action and Clinical Applications.** *Probiotics & Health.* 1:1 (2013) 1–11.
- [28] NG, S. C.; HART, A. L.; KAMM, M. A.; STAGG, A. J.; KNIGHT, S. C.- **Mechanisms of Action of Probiotics: Recent Advances.** *Inflammatory Bowel Diseases.* 15:2 (2009) 300–310.
- [29] BAJAJ, B. K.; CLAES, I.; LEBEER, S. - **Functional Mechanisms of Probiotics.** *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences.* 4:4 (2015) 321–327.
- [30] SPINLER, J. K.; ROSS, C. L.; SAVIDGE, T. C. - **Probiotics as adjunctive therapy for preventing Clostridium difficile infection - What are we waiting for?** *Anaerobe.* (2016) 1–7.
- [31] FITZPATRICK, L. R. - **Probiotics for the treatment of Clostridium difficile associated disease.** *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology.* 4:3 (2013) 47–52.
- [32] OLLECH, J. E.; SHEN, N. T.; CRAWFORD, C. V.; RINGEL, Y. - **Use of probiotics in prevention and treatment of patients with Clostridium difficile infection.** *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* 30:1 (2016) 111–118.
- [33] LAU, C. S. M.; CHAMBERLAIN, R. S. - **Probiotics are effective at preventing Clostridium difficile-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis.** *International Journal of General Medicine.* 9 (2016) 27–37.
- [34] SAEZ-LARA, M. J.; GOMEZ-LLORENTE, C.; PLAZA-DIAZ, J.; GIL, A. - **The Role of Probiotic Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in the Prevention and Treatment of Inflammatory Bowel Disease and Other Related Diseases : A Systematic Review of Randomized Human Clinical Trials.** *BioMed Research International.* (2015) 1–15.
- [35] WHELAN, K.; QUIGLEY, E. M. M. - **Probiotics in the management of irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease.** *Current Opinion in Gastroenterology.* 29:2 (2013) 184–189.
- [36] VEERAPPAN, G. R.; BETTERIDGE, J.; YOUNG, P. E. - **Probiotics for the Treatment of Inflammatory Bowel Disease.** *Current Gastroenterology Reports.* 14 (2012) 324–

333.

- [37] SANDERS, M. E.; GUARNER, F.; GUERRANT, R.; HOLT, P. R.; QUIGLEY, E. M. M.; SARTOR, R. B.; SHERMAN, P. M.; MAYER, E. A. - **An update on the use and investigation of probiotics in health and disease.** *Gut.* 62:5 (2013) 787–96.
- [38] JONKERS, D.; PENDERS, J.; MASCLÉE, A.; PIERIK, M. - **Probiotics in the Management of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review of Intervention Studies in Adult Patients.** *Drugs.* 72:6 (2012) 803–823.
- [39] MARIK, P. E. - **Colonic flora, probiotics, obesity and diabetes.** *Frontiers in Endocrinology.* 3:7 (2012) 1–6.
- [40] DELZENNE, N. M.; NEYRINCK, A. M.; BÄCKHED, F.; CANI, P. D.- **Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics.** *Nature Reviews Endocrinology.* 7:11 (2011) 639–646.
- [41] HUMAN MICROBIOME PROJECT – *About the HMP.* [Acedido a 1 de setembro de 2016]. Disponível na Internet: <http://hmpdacc.org/>
- [42] METAGENOMICS OF THE HUMAN INTESTINAL TRACT – *Objectives.* [Acedido a 1 de setembro de 2016]. Disponível na Internet: <http://www.metahit.eu/>

CAPA:

Autor da imagem de capa – Ian Cuming.