



**FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**  
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

MARIA LADEIRA MORAIS

***A influência do microbioma no envelhecimento***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE FISIOPATOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:

DRA. SOFIA DO VALE PEREIRA

PROFESSORA DOUTORA ANABELA MOTA PINTO

MARÇO/2023

# ***A influência do microbioma no envelhecimento***

**Artigo de Revisão**

Maria Ladeira Morais<sup>1</sup>; Sofia do Vale Pereira<sup>1,2</sup>; Anabela Mota Pinto<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> Instituto de Patologia Geral, Coimbra

E-mail: maria.ladeira.morais@gmail.com

## ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>1</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>3</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>3</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>4</b>
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>5</b>
<b>3. O ENVELHECIMENTO</b> .....	<b>5</b>
<b>4. O MICROBIOMA</b> .....	<b>8</b>
<b>4.1. BREVE CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA</b> .....	<b>8</b>
<b>4.2. O MICROBIOMA HUMANO</b> .....	<b>8</b>
<b>4.2.1. O MICROBIOMA INTESTINAL</b> .....	<b>9</b>
<b>4.2.2. O MICROBIOMA DA PELE</b> .....	<b>16</b>
<b>4.2.3. O MICROBIOMA ORAL</b> .....	<b>19</b>
<b>4.2.4. O MICROBIOMA NASAL</b> .....	<b>21</b>
<b>4.2.5. O MICROBIOMA PULMONAR</b> .....	<b>24</b>
<b>4.2.6. O MICROBIOMA GENITO-URINÁRIO</b> .....	<b>25</b>
<b>5. O ESTILO DE VIDA E O MICROBIOMA</b> .....	<b>27</b>
<b>5.1. A ATIVIDADE FÍSICA E O MICROBIOMA</b> .....	<b>30</b>
<b>5.2. A DIETA E O MICROBIOMA</b> .....	<b>34</b>
<b>6. OS FÁRMACOS E O MICROBIOMA</b> .....	<b>38</b>
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	<b>41</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>43</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>46</b>

## ABREVIATURAS

AF – Atividade Física

ARDs – Doenças Associadas à Idade (do inglês, *Age Related Diseases*)

AVC – Acidente Vascular Cerebral

AVV – Atrofia Vulvovaginal

CCR – Carcinoma Colorretal

D – Dasatinib

DA – Doença de *Alzheimer*

DCV – Doenças Cardiovasculares

DII – Doença Inflamatória Intestinal

DM – Diabetes *Mellitus*

DM2 – Diabetes *Mellitus* tipo 2

DMI – Degenerescência Macular da Idade

DP – Doença de *Parkinson*

DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica

EF – Exercício Físico

EFA – Exercício Físico Aeróbio

FR – Fator de Risco

GABA – Ácido Gama-Aminobutírico

H<sub>2</sub>S – Sulfureto de Hidrogênio

HbA1c – Hemoglobina Glicada

HC – Hidratos de Carbono

HDL – Lipoproteína de Alta Densidade (do inglês, *High Density Lipoprotein*)

HTA – Hipertensão Arterial

IBPs – Inibidores da Bomba de Prótons

ICD – Infecção por *Clostridium difficile*

IL – Interleucina

IMC – Índice de Massa Corporal

ITRS – Infecções do Trato Respiratório Superior

ITU – Infecções do Trato Urinário

LPS – Lipopolissacarídeos

MI – Microbiota Intestinal

MM – Meato Médio

NA – Narinas Anteriores

NGS – Sequenciação de Nova Geração (do inglês, *Next-Generation Sequencing*)

PPT – Parto Pré-Termo

Q – Quercetin

QoL – Qualidade de Vida (do inglês, *Quality of Life*)

RN – Recém-Nascidos

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio (do inglês, *Reactive Oxygen Species*)

SASP – Fenótipo Secretor Associado à Senescência (do inglês, *Senescence-Associated Secretory Phenotype*)

SCFA – Ácidos Gordos de Cadeia Curta (do inglês, *Short Chain Fat Acids*)

SI – Sistema Imunitário

SNC – Sistema Nervoso Central

TGF- $\beta$  – Fator de Transformação do Crescimento beta (do inglês, *Transforming Growth  $\beta$* )

TGI – Trato Gastrointestinal

TGU – Trato Génito-Urinário

TNF- $\alpha$  – Fator de Necrose Tumoral  $\alpha$  (do inglês, *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$* )

Treg – Células T Reguladoras; Linfócitos T Reguladores

TRS – Trato Respiratório Superior

TU – Trato Urinário

VA – Vias Aéreas

*vs* – *versus*

$\alpha$ -Syn –  $\alpha$ -Sinucleína

## RESUMO

O envelhecimento é um processo fisiológico inerente a todos os seres humanos e, com o avançar da idade, surgem várias comorbidades que limitam a qualidade de vida do indivíduo bem como a sua longevidade. O desenvolvimento tecnológico, em particular, de técnicas de sequenciação de nova geração, permitiu o estudo do microbioma humano e, decorrente deste conhecimento, tem-se observado, que existe uma relação entre as modificações do microbioma humano (disbiose) e as alterações intrínsecas ao processo do envelhecimento. Além disso, vários estudos têm demonstrado que, através da manipulação da microbiota é possível modular os mecanismos subjacentes às doenças associadas à idade, através de alterações nos estilos de vida, incluindo a dieta, do uso de pré e probióticos, minimizando o seu impacto na qualidade de vida do indivíduo.

Este estudo tem como objetivo a análise e a revisão da literatura sobre a influência do microbioma no envelhecimento, incluindo a descrição dos microrganismos associados a alterações favoráveis e desfavoráveis, ao longo do envelhecimento, e o impacto no estado de saúde do hospedeiro. Pretende-se atingir uma base de referência para consulta, possibilitando o conhecimento, no futuro, de medidas terapêuticas individualizadas, não só nos processos patológicos, mas também na promoção de saúde e qualidade de vida ao longo do envelhecimento.

**Palavras-chave:** microbioma, envelhecimento, disbiose.

## ABSTRACT

Aging is a physiological process inherent to all human beings and, with advancing age, several comorbidities arise that limit the quality of life of the individual as well as their longevity. The technological development, particularly of next-generation sequencing techniques, has allowed the study of the human microbiome and, as a result of this knowledge, it has been observed that there is a relationship between changes in the human microbiome (dysbiosis) and changes intrinsic to the aging process. Furthermore, several studies have shown that, by manipulating the microbiota, it is possible to modulate the mechanisms underlying age-related diseases through changes in lifestyle, including diet, the use of pre- and probiotics, minimizing their impact on the quality of life of the individual.

This study aims to analyze and review the literature about the influence of the microbiome in aging, including describing the microorganisms associated with favorable and unfavorable changes, throughout aging, and the impact on host health status. It is intended to achieve a reference base for consultation, enabling knowledge in the future of individualized therapeutic measures, not only in pathological processes, but also in the promotion of health and quality of life throughout aging.

**Keywords:** microbiome, aging, dysbiosis.

## 1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de métodos de sequenciação de nova geração (NGS) de DNA e as tecnologias *omics* (*metatranscriptomics*, *metaproteomics* e *metabolomics*) tornaram possível o estudo da composição e função da microbiota, desde o seu estabelecimento, nos estádios mais precoces da vida, até às idades mais avançadas.<sup>1</sup> Este progresso da ciência, permite adquirir uma perspetiva diferente no que diz respeito ao nosso organismo e aos infinitos processos que nele decorrem.<sup>2,3</sup>

Dada a estreita relação simbiótica que existe entre os seres humanos e os microrganismos que habitam os vários locais do corpo humano, o ser humano é considerado um “**metaorganismo**”.<sup>4,5</sup>

A **microbiota** corresponde ao conjunto de microrganismos comensais que colonizam o nosso corpo incluindo bactérias, *Archaea*, vírus e eucariontes unicelulares, sendo o cólon o local com a maior população microbiana. O **microbioma**<sup>(1)</sup> corresponde ao conjunto de genes contidos pela microbiota, que influenciam a fisiologia e o metabolismo do hospedeiro.<sup>1</sup>

Cada *habitat* do corpo humano apresenta uma microbiota bacteriana única, que reflete as propriedades ambientais locais e que sofre alterações com a idade do hospedeiro, modulando o seu desenvolvimento e vice-versa.<sup>4</sup>

A **disbiose** corresponde ao desequilíbrio da microbiota de um organismo, e caracteriza-se por uma perda de bactérias comensais benéficas que protegem o hospedeiro do sobrecrecimento de agentes patogénicos oportunistas que, nestas condições, são capazes de se multiplicar, promovendo o distúrbio de várias funções essenciais ao normal funcionamento do organismo e, conseqüentemente, ao aparecimento de doença.<sup>6,7</sup> Este desequilíbrio ocorre, maioritariamente, nos indivíduos mais idosos, como resultado de **alterações intrínsecas** ao hospedeiro, mas também da **exposição ambiental**. Assim, de forma geral, **indivíduos jovens e saudáveis** possuem uma microbiota mais variada e equilibrada relativamente aos **indivíduos menos saudáveis ou mais idosos**, nos quais se verifica uma menor diversidade e uma maior proporção de microrganismos causadores de doença.<sup>6</sup> Perante esta associação, considera-se que a disbiose esteja relacionada com o aumento da fragilidade e com o desenvolvimento de comorbilidades [doenças cardíacas, acidente vascular cerebral (AVC), hipertensão arterial (HTA), declínio cognitivo e cancro], frequentemente, associadas ao envelhecimento.<sup>6</sup> De facto, a evidência crescente sugere que o microbioma, em particular, o intestinal, está no cerne de muitas alterações associadas à idade, incluindo a desregulação do sistema imunitário (SI) e a suscetibilidade a doenças.<sup>8</sup> Quando há um enfraquecimento da cooperação entre as nossas próprias células e a microbiota intestinal (MI), a comunidade microbiana dentro do intestino pode tornar-se uma fonte de infeção e, por vezes, levar a doenças ameaçadoras à vida.<sup>6</sup> Por outro lado, **fatores ambientais**, a **dieta** e, até mesmo, a **atividade física** (AF) podem influenciar o microbioma e, conseqüentemente, as várias funções desempenhadas pelos diferentes microrganismos, responsáveis pela manutenção da saúde do hospedeiro.

---

(1) Por convenção, ao longo deste trabalho, poder-se-á usar a palavra microbioma como sinónimo de microbiota, embora tenham definições diferentes, como já descrito no texto.

Desta forma, é de extrema importância compreender como o microbioma de um organismo envelhecido está relacionado com os mecanismos das **doenças associadas à idade** (ARDs), com o objetivo de melhorar a saúde humana através do microbioma, para além da simples prevenção de agentes patogénicos oportunistas.<sup>6</sup> Assim, têm sido desenvolvidas várias estratégias com o objetivo de restaurar o equilíbrio do microbioma e, conseqüentemente, melhorar o perfil de saúde dos mais vulneráveis, em particular, os **idosos**. Estas estratégias compreendem alterações no estilo de vida, incluindo a dieta e a AF, mas, também, o uso de pré e probióticos.

Esta revisão narrativa pretende sintetizar o conhecimento atual sobre alterações que ocorrem nas várias microbiotas humanas, ao longo do envelhecimento, e a influência destas na saúde do indivíduo. Adicionalmente, aflora-se a abordagem de fatores como o estilo de vida, a dieta, a AF e alguns fármacos que, por influenciarem o microbioma, poderão abrir portas ao desenvolvimento de novas intervenções capazes de modular o microbioma humano e, conseqüentemente, o envelhecimento.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização desta revisão narrativa foi feita uma pesquisa através da base de dados *PubMed* usando os seguintes termos *MeSH*: “*Microbiome*”, “*Microbiota*” e “*Aging*”, através da equação de pesquisa: “*Microbiota*” AND “*Aging*”.

A pesquisa obedeceu aos seguintes parâmetros: idioma (inglês), espécie (humana), do qual resultou um total de 455 artigos com data de publicação compreendida entre 2013 e 2022. Deste resultado, foi feita uma seleção manual de 189 artigos tendo por base a pertinência do título e resumo de cada um e a sua relação com o tema desta revisão narrativa. Adicionalmente, foram acrescentados artigos, considerados de interesse, obtidos através da leitura dos selecionados inicialmente. Por fim, para a elaboração desta revisão foram utilizados 30 artigos.

## 3. O ENVELHECIMENTO

O **envelhecimento** é definido como uma acumulação contínua de alterações prejudiciais, em todo o organismo, devido à deterioração das funções fisiológicas de vários tecidos e órgãos<sup>9</sup>, com conseqüente perda de viabilidade, aumento da vulnerabilidade e uma probabilidade aumentada de morte. Desta forma, o envelhecimento é frequentemente acompanhado por doença e incapacidade.<sup>1</sup>

A esperança média de vida está a aumentar a nível mundial e, de acordo com as Nações Unidas, mais de 20% da população mundial irá ter mais de 60 anos, em 2050.<sup>1</sup> Nesta perspetiva do envelhecimento da população, forçosamente, ocorre um aumento dos custos associados aos cuidados de saúde. Neste contexto, é essencial melhorar a saúde dos mais idosos, não só para minimizar o impacto económico, mas também para proporcionar uma melhor qualidade de vida (QoL) e um envelhecimento mais saudável.

O envelhecimento ocorre inevitavelmente em todos os organismos, sendo moduladores da deterioração corporal inerente ao avançar da idade biológica, a genética, a epigenética e fatores ambientais (ex.: dieta, AF) e todas as suas interações.<sup>8,10</sup> *López et al.*<sup>11</sup> foram pioneiros na investigação das características que estão na base das alterações que ocorrem com o envelhecimento e definiram 9 marcos subjacentes a este processo, que incluem **mecanismos celulares e moleculares** como: instabilidade genómica, encurtamento de telómeros, alterações epigenéticas e perda de proteostase que conduzem a mecanismos de compensação, nomeadamente, a desregulação da deteção de nutrientes, disfunção mitocondrial e a senescência celular, que por sua vez promovem a exaustão das células estaminais e a alteração da comunicação intercelular, que são responsáveis pelo declínio funcional associado ao envelhecimento.<sup>8,9</sup> Através da definição destes 9 marcadores, *López et al.* foram impulsionadores da investigação dos mecanismos subjacentes ao envelhecimento e, conseqüentemente, do desenvolvimento de novas estratégias capazes de prevenir a degradação inerente a este processo fisiológico.

Assim, ao longo do tempo, o organismo acumula danos moleculares, organelos disfuncionais e células senescentes<sup>5,12</sup> que contribuem para o envelhecimento biológico.

A **senescência celular** é uma das causas mais reconhecidas de envelhecimento.<sup>9</sup> Com o avançar da idade há um declínio normal e contínuo das funções fisiológicas, que constitui o processo de senescência, no qual várias funções interrelacionadas do corpo são afetadas, tornando os idosos mais propensos a patologias infecciosas, digestivas, lesões ósseas e problemas de saúde mental.<sup>1</sup> As **células senescentes** são caracterizadas por múltiplas alterações na morfologia, fisiologia e bioquímica celulares, sendo a característica mais importante e essencial a cessação permanente da proliferação.<sup>9</sup> Estas células participam na génese do estado inflamatório crónico de baixo grau através da excreção excessiva de proteínas específicas (**fenótipo secretor associado à senescência – SASP<sup>(2)</sup>**) e pela produção aumentada de espécies reativas de oxigénio (ROS), tendo-se demonstrado, em modelos animais, que a sua eliminação melhorava o funcionamento do organismo e que prolongava ligeiramente a longevidade.<sup>9</sup>

Paralelamente, com o envelhecimento, verifica-se também um declínio gradual do **SI** caracterizado por um desequilíbrio entre a atividade pro e anti-inflamatória.<sup>8</sup> São as alterações que ocorrem nos estados pro-inflamatórios que promovem uma inflamação sistémica de baixo grau sustentada -“**inflammaging**”, associada a maior predisposição para doenças crónicas, nomeadamente, doenças cardiovasculares (DCV), metabólicas, declínio cognitivo, fragilidade e, eventual, mortalidade mais precoce.<sup>6,8</sup> Este aumento crónico dos mediadores pro-inflamatórios [ex.: fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 6 (IL-6)] promove a ativação de várias vias de sinalização que têm um impacto dramático na função imunitária, favorecendo a deterioração deste sistema - **imunossenescência**.<sup>6</sup> Esta degradação do SI associada à idade, também resulta da adaptação do corpo, ao longo da vida, aos danos provocados por infeções bacterianas/virais e outros stressores.<sup>4</sup> A imunossenescência aumenta a suscetibilidade a infeções e a prevalência de doenças crónicas.<sup>13</sup> A nível celular, o envelhecimento

---

<sup>(2)</sup> SASP - Caracterizado pela expressão de Cxcl1, IL1 $\beta$ , IL6, MCP1 e TNF- $\alpha$ .

do SI traduz-se na alteração da composição das subpopulações leucocitárias e redução de várias das suas funções.<sup>13</sup> Em relação à **resposta imune inata**, verifica-se uma prevalência de células pró-inflamatórias e, relativamente à **imunidade adaptativa**, de células diferenciadas, sendo que fatores associados ao estilo de vida (ex.: obesidade, sedentarismo), podem levar ao envelhecimento imune mal-adaptativo, promovendo várias doenças crónicas.<sup>13</sup>

A existência deste estado pro-inflamatório na população idosa, inclui, também, **neuroinflamação**, que parece promover o declínio cognitivo e doenças neurodegenerativas<sup>1</sup>, como é o caso da Doença de *Alzheimer* (DA), caracterizada por uma resposta inflamatória rica em concentrações periféricas de IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , fator de transformação do crescimento beta (TGF- $\beta$ ), IL-12 e IL-8.<sup>6</sup>

Outro conceito a ter em conta no envelhecimento é a **fragilidade**, definida como um estado de vulnerabilidade aumentado e uma capacidade diminuída de restituir a homeostasia após um evento de stress com conseqüente aumento do risco de mortalidade. *Fried et al.* foram dos primeiros a definir fragilidade sendo necessário cumprir três dos cinco critérios estabelecidos e indicadores de compromisso energético: baixa força de preensão palmar, níveis baixos de energia, redução da velocidade de marcha, diminuição da AF e/ou perda de peso não intencional. A origem deste processo complexo ainda não está esclarecida, existindo uma nova teoria que associa a *inflammaging* e a imunossenescência como possíveis causas de fragilidade. Tal como outras ARDs, a **fragilidade** também parece estar associada à disfunção imune e inflamação, com uma alteração complexa da produção de citocinas inflamatórias.<sup>6</sup>

Além de investigarmos o que está na base das ARDs, para que se possam desenvolver as melhores estratégias com o objetivo de melhorar a QoL e o perfil de saúde dos idosos, é, também, importante analisar o que acontece nos indivíduos cujo envelhecimento é considerado saudável, ou melhor, bem-sucedido, de que são exemplo os **centenários**. Estes indivíduos, considerados um modelo biológico de envelhecimento pela sua capacidade em alcançar décadas extremas de idade<sup>13</sup>, ao longo da sua vida, evitaram ou sobreviveram à maioria das doenças que são responsáveis pela morbimortalidade na maioria dos outros idosos, contudo, continuam a apresentar alguns sinais característicos do envelhecimento.<sup>8</sup>

As alterações que ocorrem nos seres humanos com um **envelhecimento saudável**, são consideradas alterações fisiológicas e apropriadas à idade, adaptadas às necessidades do envelhecimento do corpo.<sup>13</sup> Os centenários apresentam níveis elevados de moléculas **anti-inflamatórias** na tentativa de compensar o aumento da *inflammaging* (inerente à idade biológica) e encontrar um equilíbrio entre os mecanismos pro e anti-inflamatórios, o que, provavelmente, lhes permitiu alcançar o limite da esperança de vida humana.<sup>4</sup>

Assim, atualmente, pensa-se que a *inflammaging* e a imunossenescência sejam responsáveis pela maioria das ARDs<sup>6</sup> e, nesse sentido, poderão estar na base do desenvolvimento de novas intervenções com o objetivo de promover um envelhecimento saudável.

## 4. O MICROBIOMA

### 4.1. BREVE CONTEXTUALIZAÇÃO HISTÓRICA

A primeira referência entre micróbios e envelhecimento saudável foi feita por *Metchnikoff*, um dos fundadores da microbiologia e da imunologia moderna. *Metchnikoff* escreveu o livro *The Prolongation of Life* (*Metchnikoff*, 1908), no qual desenvolveu o conceito de que, para lutar pela sobrevivência, os animais mais desenvolvidos tinham de ter um intestino cada vez mais complexo e distinguiu dois tipos de metabolismo das bactérias intestinais: a **putrefação**, cujos produtos residuais eram metabolitos nocivos, e a **fermentação**, da qual resultavam produtos metabólicos finais benéficos, como o ácido láctico. Ao observar populações que apresentavam um maior consumo de iogurte estavam associadas a uma maior longevidade, *Metchnikoff* sugeriu fazer melhorias na dieta e defendeu a ideia de que o metabolismo da fermentação das bactérias ácido-láticas iria contrabalançar a putrefação pelas bactérias intestinais nocivas e os seus efeitos tóxicos nos nossos tecidos.<sup>6</sup>

Nos primórdios da microbiologia, o estudo da comunidade da MI envolveu o isolamento e cultura de micróbios individuais de fezes e permitiu a descoberta dos coliformes por *Teodor Escherich*, que isolou a primeira bactéria gastrointestinal, a *Bacterium coli commune*, mais tarde, denominada por *Escherichia coli*. Posteriormente, foram isoladas outras estirpes bacterianas gastrointestinais *major*, nomeadamente, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e *Bacillus*. No entanto, a maioria dos microrganismos que habitam o trato gastrointestinal (TGI) são anaeróbios obrigatórios e muitos deles não eram cultiváveis, o que limitava a sua identificação, dado à inexistência, à data, de técnicas capazes de o fazerem. É então que, há um avanço significativo na caracterização da MI com o desenvolvimento de técnicas de cultura para anaeróbios desenvolvidas por *Hungate*. No entanto, o estudo da microbiota só se tornou mais completo com o desenvolvimento de técnicas independentes de cultura que permitiram a identificação de micróbios não cultiváveis, assim como referido anteriormente às mais recentes técnicas de NGS e da abordagem multiómica. Além disso, começaram a ser estabelecidas relações taxonómicas e filogenéticas entre os organismos (*Anexo I*).<sup>1</sup>

### 4.2. O MICROBIOMA HUMANO

De facto, o microbioma coexiste com os humanos como um ecossistema e reflete o estado de saúde ou doença do hospedeiro.<sup>14</sup> Está patente na literatura que, a maioria destes microrganismos, coloniza o intestino e desempenha um papel central na manutenção da saúde humana ao regular as respostas imunes, a nutrição e o metabolismo do hospedeiro, o desenvolvimento e comportamento cerebrais e a progressão de doenças, como o cancro e a Diabetes *mellitus* (DM).<sup>5</sup>

O momento exato do início da colonização microbiana num organismo ainda é tema de debate, no entanto, pensa-se que todo o processo tenha início ainda *in útero*, apesar de alguns estudos retornarem à hipótese de que a placenta é estéril, não sendo, por isso, possível a aquisição pelo feto de qualquer microflora neste estadio.<sup>9</sup> Sabe-se ainda que, o tipo de parto influencia a composição da microbiota.<sup>9,7</sup>

As comunidades microbianas **diferem entre os epitélios** e alcançam a maior complexidade e diversidade taxonómica na cavidade oral e no TGI.<sup>12</sup> Entre os fatores do hospedeiro envolvidos na formação da microbiota durante o processo de envelhecimento estão os genes e a imunossenescência.<sup>15,14</sup> Porém, os fatores ambientais como a dieta, os fármacos e o ambiente social modulam francamente a composição da microbiota, pelo que, a heterogeneidade ambiental, mais do que a genética do hospedeiro, explica a maioria das diferenças interindividuais da composição da microbiota nos humanos.<sup>1,12</sup>

A microbiota individual é uma **comunidade dinâmica** sujeita a alterações ao longo da vida relacionadas com a evolução do hospedeiro.<sup>12</sup> Da mesma maneira que a nossa evolução foi influenciada pela microbiota, a evolução destas comunidades que habitam o nosso corpo foi influenciada pela sua necessidade de manter a saúde dos seus hospedeiros.<sup>15</sup> Para a sua sobrevivência, estas comunidades desenvolveram a capacidade de prevenir a adoção, pelos seus hospedeiros, duma resposta imune agressiva à sua presença.<sup>15</sup> Recorrendo ao exemplo do microbioma intestinal, esta capacidade deve-se, em parte, ao facto destas comunidades influenciarem o aumento da produção de linfócitos T reguladores (Treg) com atividade anti-inflamatória.<sup>15</sup> Ainda assim, durante o envelhecimento ocorrem alterações na MI, frequentemente acompanhadas por alterações fisiológicas do TGI, modificações dos padrões alimentares e por um enfraquecimento do SI.<sup>1</sup> Estas alterações da microbiota associadas à idade induzem alterações fisiológicas capazes de modificar a homeostasia do SI e o estado inflamatório, que contribuem para o aumento do risco de doença e fragilidade.<sup>15</sup> De facto, o SI do hospedeiro desempenha um papel importante nesta modulação das comunidades microbianas comensais, ao eliminar seletivamente os agentes patogénicos e permitindo a proliferação dos comensais.<sup>12</sup> Desta forma, este declínio do SI, associado ao envelhecimento, compromete esta sua tão importante função, promovendo a **disbiose**.

Importa também referir que na relação entre o microbioma e o envelhecimento, este último deve ser considerado como uma entidade biológica e não cronológica.<sup>13</sup> Além disso, não existe uma idade específica que determine as alterações da microbiota adulta para a envelhecida, sendo que esta transição ocorre gradualmente.<sup>1</sup> Então, a manutenção de uma microbiota saudável poderá ser essencial para a manutenção de uma boa QoL, na idade avançada<sup>1</sup>, pelo que, o estudo da evolução do microbioma ao longo do envelhecimento pode ser a chave para a descodificação das ARDs e para o desenvolvimento de potenciais ferramentas médicas de diagnóstico e intervenções capazes de otimizar a saúde pessoal através da manipulação das comunidades bacterianas.<sup>14</sup>

#### **4.2.1. O MICROBIOMA INTESTINAL**

O microbioma intestinal humano tem sido o mais estudado, uma vez que se considera que este esteja no cerne de múltiplas patologias devido à sua capacidade em converter sinais do meio ambiente e nutrientes da dieta em componentes bioativos que sinalizam os órgãos e tecidos à distância.<sup>4</sup> Durante a última década, a MI tem sido reconhecida como um centro de sinalização que integra os hábitos alimentares com os sinais genéticos e imunes,<sup>10</sup> e com estreita conexão aos sistemas imune, hormonal,

sistema nervoso central (SNC), bem como a outras funções do hospedeiro.<sup>4</sup> Através da metatranscriptômica verificou-se que, a MI contribui para o reforço e aumento do potencial metabólico do hospedeiro, pois cerca de 50% dos genes expressos pela comunidade microbiana estão envolvidos no transporte e metabolismo dos hidratos de carbono (HC), aminoácidos, lípidos, ácidos nucleicos e na produção energética.<sup>1</sup> O conhecimento da relação do microbioma intestinal e a fisiopatologia pode trazer novas perspectivas sobre a influência dos microrganismos no envelhecimento e, conseqüentemente, ao desenvolvimento de novas estratégias na prevenção das ARDs (ex.: doença cardíaca, HTA, déficit cognitivo, cancro).<sup>6</sup>

A MI desempenha várias **funções**, entre as quais: manutenção da integridade e da funcionalidade do epitélio intestinal, contribuindo para o reforço da barreira intestinal, para o fornecimento de nutrientes e para a proteção contra agentes patogênicos; inibição da adesão destes à superfície intestinal; modulação e maturação do SI (estimulação da produção de imunoglobulina A, supressão de citocinas pro-inflamatórias e indução das Treg); degradação de fontes de carbono não-digeríveis e produção de vários metabolitos como vitaminas (ex: K e B) e ácidos gordos de cadeia curta (SCFA).<sup>1,9,13</sup> Além disso, neutraliza fármacos e agentes carcinogênicos e regula o stress oxidativo.<sup>9</sup> Os SCFA (acetato, propionato e butirato) são os metabolitos mais abundantes, produzidos pela microbiota como produtos finais da fermentação de proteínas e de HC não digeríveis, no cólon.<sup>1</sup> Estes compostos afetam a fisiologia do cólon, contribuem para a modulação do ambiente microbiano intestinal, servem de fonte energética para as células, possuem propriedades anti-inflamatórias e influenciam o metabolismo e a fisiologia do hospedeiro.<sup>1,6</sup> Ou seja, os produtores de SCFA desempenham um papel crucial no intestino humano ao promoverem a homeostasia imune e compensando a inflamação.<sup>4</sup>

Apesar da elevada **variabilidade interindividual**, determinada pelo peso, sexo, idade ou local de residência, determinou-se que três enterotipos microbianos específicos (*Bacteroides*, *Prevotella* ou *Ruminococcus*) são constantes.<sup>15</sup>

A diversidade, a estabilidade e a complexidade da MI evoluem, aproximadamente, até aos 3 anos de idade, permanecem sem alterações significativas nos adultos saudáveis e tornam-se novamente instáveis nos idosos.<sup>1,12</sup>

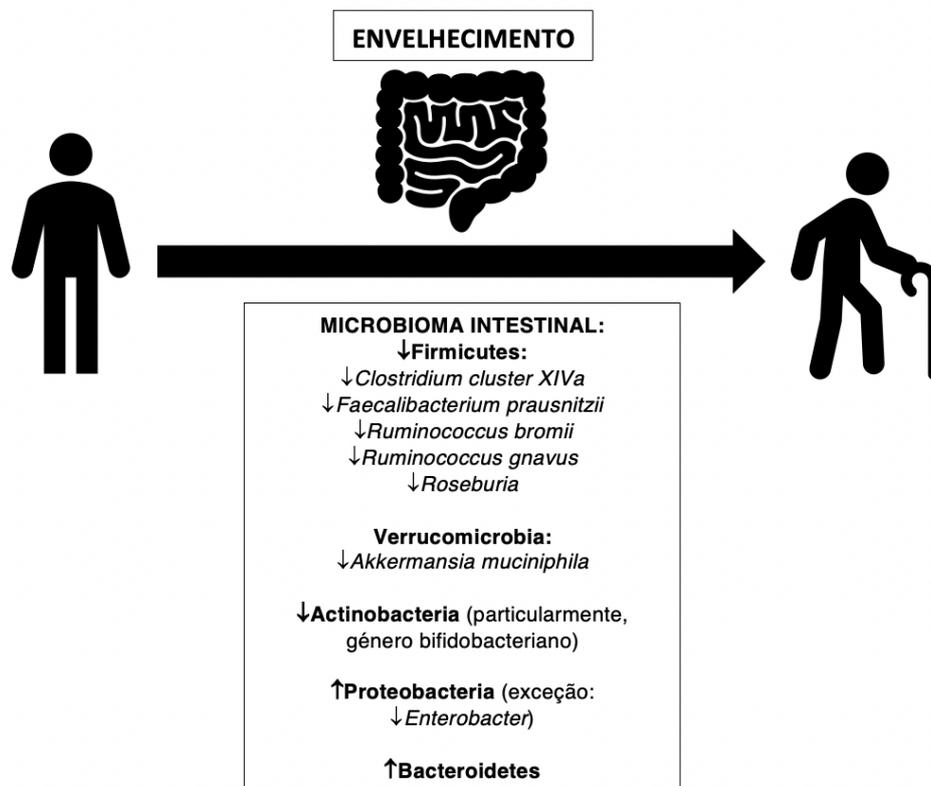
O padrão de colonização clássico, no **início da vida**, envolve, principalmente, anaeróbios facultativos, que são substituídos ao longo do tempo por microrganismos anaeróbios obrigatórios devido ao consumo de oxigénio pelos primeiros colonizadores.<sup>1</sup> A composição da MI inicial é simples, dinâmica e muito instável, podendo ser influenciada por diversos fatores, nomeadamente, pelo tipo de parto (eutócico ou cesariana), pelo tipo de alimentação (leite materno ou fórmula), pelo peso à nascença ou pelo estilo de vida materno e pelo uso de antibióticos.<sup>1</sup> Crianças nascidas por cesariana apresentam uma menor diversidade bacteriana, em particular, menos *Bifidobacteria*.<sup>15</sup> Além disso, alguns investigadores defendem que a microbiota de bebés alimentados com fórmula é caracterizada por ter mais *taxa* pro-inflamatórias.<sup>15</sup>

A composição da MI do adulto, a nível do filo, é representada, maioritariamente (≈80%) por dois filões *major*, Bacteroidetes e Firmicutes<sup>1,15</sup>, com maior abundância do primeiro nos idosos e o segundo filo

em maior quantidade nos indivíduos jovens.<sup>6</sup> Recentemente, o aumento de Bacteroidetes com o envelhecimento foi associado à diminuição da esperança de vida e ao aumento da mortalidade<sup>5</sup>, enquanto perfis mais saudáveis têm sido associados ao Firmicutes.

Apesar da MI ser relativamente estável na **idade adulta**, alguns fatores como stress, antibióticos, dieta e estilo de vida podem promover flutuações na sua composição.<sup>1</sup>

Com o **envelhecimento**, a MI torna-se, novamente, instável, à custas das várias alterações que nela ocorrem, favorecendo a disbiose<sup>1</sup> que, por sua vez, está associada a vários distúrbios de diferentes órgãos do corpo humano, tais como, o cérebro, o pulmão, a articulação, o coração, o fígado e o tecido adiposo.<sup>4</sup> Estas alterações resumem-se a **diminuição da diversidade e da abundância das espécies bacterianas** (Figura 1), alterações nas espécies dominantes (ex.: diminuição dos microrganismos benéficos, nomeadamente, diminuição progressiva dos géneros anti-inflamatórios produtores de butirato, como *Faecalibacterium* e *Roseburia*<sup>4</sup>) e alterações ao nível das vias metabólicas, nomeadamente, uma diminuição da produção de SCFA.<sup>1,6,9</sup> Adicionalmente, os **agentes patogénicos oportunistas** surgem mais frequentemente nas idades mais avançadas.<sup>1</sup> Este facto deve-se, provavelmente, ao aumento da proporção de bactérias, que, de outro modo, seriam pouco abundantes e nocivas, como alguns membros das famílias *Enterobacteriaceae*, *Streptococcaceae*, e *Staphylococcaceae*.<sup>4</sup> Mas, no geral, a MI dos idosos tem uma maior representação de Proteobacteria.<sup>12</sup>



**Figura 1 - Evolução do microbioma intestinal ao longo do envelhecimento.** O envelhecimento caracteriza-se, na generalidade, por um aumento dos filos Proteobacteria e Bacteroidetes e uma diminuição dos filos Firmicutes e Actinobacteria. As espécies menos abundantes nos idosos, são, sobretudo, anaeróbias, nomeadamente, *Clostridium cluster XIVa* e *Faecalibacterium prausnitzii*<sup>6</sup>, mas também o género *Roseburia*. Verifica-se uma diminuição de Actinobacteria (principalmente do género bifidobacteriano) e de *Enterobacter*.<sup>6,9</sup> Outras espécies metabólicas chave que diminuem à medida que envelhecemos são *Akkermansia muciniphila*, uma bactéria que decompõe a mucina, *Ruminococcus bromii*, responsável pela degradação do amido e um comensal intestinal prevalente, o *Ruminococcus gnavus*.<sup>6</sup> (Abreviaturas: ↑ - aumento da quantidade; ↓ - diminuição da quantidade).

Apesar destas alterações estarem associadas à disbiose do microbioma associada à idade, a variação da abundância das espécies relacionada com a idade é, provavelmente, devida a fatores externos relacionados com a nacionalidade, a dieta, o ambiente e o estilo de vida.<sup>6</sup>

Os **patobiontes**, termo referente aos microrganismos colonizadores que sob determinadas circunstâncias produzem efeitos nocivos, afetam a integridade epitelial e promovem a secreção de marcadores inflamatórios, como a IL-6 e a IL-8, resultando num aumento da inflamação sustentada e persistente. A inflamação intestinal promove uma camada mucosa interna mais fina e danificada, permitindo que as bactérias atinjam o epitélio. As estirpes patogênicas produzem exotoxinas que induzem alterações nas *tight-junctions*, aumentando a permeabilidade intestinal, que, conseqüentemente, promove síndrome de cólon irritável, desenvolvimento de carcinoma colorretal (CCR), podendo, também, levar à perturbação do *blood-brain axis*, afetando negativamente as doenças neurodegenerativas. No entanto, a permeabilidade intestinal pode ser modificada por **estirpes bacterianas benéficas** como *Lactobacillus plantarum*, *Escherichia coli* Nissle e *Bifidobacterium infantis*, que aumentam a expressão de proteínas formadoras de *tight-junctions*, fortalecendo a barreira intestinal.<sup>9</sup>

A diminuição da biodiversidade também pode representar um fator de risco (FR) para as **defesas do hospedeiro** contra a invasão de agentes patogênicos, por exemplo, ao promover infecções por bactérias oportunistas como o *Clostridium difficile*. A diarreia associada ao *C.difficile* é uma complicação nosocomial *major* nos idosos frequentemente hospitalizados.<sup>4</sup>

Assim sendo, diferentes formas de inflamação induzidas pela disbiose, inicialmente a nível local e, posteriormente, a nível sistêmico, podem ser o início e/ou os precursores de várias ARDs, que representam um obstáculo para o envelhecimento saudável do ser humano, nomeadamente, distúrbios cardíacos, endócrinos, cerebrais, musculoesqueléticos e do SI.<sup>6</sup>

Com o avançar da idade, além das alterações na microbiota, também ocorrem **modificações no estilo de vida** e nos **hábitos dietéticos**, em resposta às modificações fisiológicas dos limiares do paladar e do olfato, à diminuição da AF, disfunções mastigatórias, entre outros. Por esta razão, a dieta dos idosos pode incluir menos fibras e proteínas e uma diminuição da introdução de alimentos não cozinhados e frescos, intensificando as alterações da MI associadas à idade, nomeadamente, a diminuição da diversidade da microbiota e da quantidade de bactérias que degradam as fibras e que produzem SCFAs, promovendo a consolidação e a aceleração da progressão das comorbilidades associadas ao envelhecimento.<sup>4</sup>

Relativamente à **patologia cardíaca**, foram documentadas alterações da MI na patogénese de distúrbios cardiovasculares associados à idade, como a insuficiência cardíaca e a doença coronária, em particular, uma diminuição da abundância de bactérias produtoras de butirato, nomeadamente, *Faecalibacterium*, *Roseburia* e *Eubacterium rectale*.<sup>5</sup>

No que diz respeito às **alterações endócrinas**, tal como referido anteriormente, a disbiose intestinal contribui para a disrupção da homeostasia sistêmica, favorecendo as vias pro-inflamatórias, promovendo obesidade e DM2.<sup>6</sup> Contudo e relativamente à **obesidade**, um estudo demonstrou uma

redução significativa do número de Bacteroidetes e um *ratio* Firmicutes/Bacteroidetes elevado, em indivíduos obesos, comparativamente a indivíduos não obesos.<sup>1</sup> Este *ratio* entre estes dois filos dominantes da microbiota, habitualmente, está aumentado em jovens e reduzido nos idosos, no entanto, alguns estudos, como o anterior, têm associado tanto valores elevados como valores reduzidos a distúrbios gastrointestinais e metabólicos.<sup>8</sup> Assim, na generalidade, o ***ratio* Firmicutes/Bacteroidetes** quando elevado, é, muitas vezes, utilizado como um indicador de saúde e longevidade<sup>8</sup>, contudo, devem ser considerados fatores que possam influenciar esta razão, como a obesidade. No que concerne ao desenvolvimento da **DM2**, também tem sido associado ao microbioma intestinal dada a sua capacidade em modular os efeitos diabetogénicos ao afetar o metabolismo da glicose, o consumo energético, a inflamação e a permeabilidade intestinal.<sup>5</sup> Na DM2, a composição da microbiota é caracterizada por uma diminuição de espécies anti-inflamatórias e probióticas e por um aumento de bactérias potencialmente patogénicas.<sup>5</sup>

Ao nível da **DII**, verifica-se um aumento da riqueza de espécies no tecido não inflamado do intestino dos doentes com DII, relativamente ao controlo, e um declínio nos tecidos totalmente inflamados.<sup>1</sup>

Relativamente à **patologia oncológica**, vários estudos demonstraram alterações na composição da MI durante o desenvolvimento de vários **tumores** (colorretal, gástrico, pulmonar, mamário, pancreático, prostático, cerebral), sendo que este microbioma pode influenciar a tumorigénese à distância ao regular os níveis de metabolitos e nutrientes em circulação, bem como pela libertação de toxinas microbianas.<sup>5</sup> Paralelamente, a imunossenescência pode resultar na resposta inapropriada aos componentes simbióticos da microbiota e/ou na diminuição da capacidade de controlar a invasão de agentes patogénicos, contribuindo para a inflamação crónica e, a longo prazo, para alguns tipos de cancro, como o CCR.<sup>4</sup> No entanto, pouco se sabe, ainda, sobre os mecanismos pelos quais estas alterações possam influenciar o início e o desenvolvimento de cancro. Recentemente, foi possível a prevenção e regressão desta doença num ratinho modelo de CCR, através da combinação de uma dieta específica com *E.coli* geneticamente modificada, que se ligava às células do CCR.<sup>12</sup>

Nas **patologias do SNC**, para melhor entendermos a ação da microbiota a este nível, importa introduzir o termo “**eixo intestino-cérebro**”, que descreve a interação bidirecional, responsável pela homeostasia, entre estes dois órgãos. O papel da microbiota na regulação deste eixo desempenha um aspeto crítico nos processos fisiológicos, como o neurodesenvolvimento, ou nos distúrbios neurodegenerativos associados à idade. Desta forma, alterações da microbiota foram associadas a vários distúrbios como depressão, autismo, esquizofrenia, DA e doença de Parkinson (DP). A comunicação do eixo intestino-cérebro é regulada por vários intermediários como o SI, o nervo vago, a sinalização hormonal intestinal, o metabolismo de aminoácidos e os metabolitos da microbiota, sendo que esta tem a capacidade de alterar os níveis dos precursores de neurotransmissores e regular a síntese e libertação de serotonina, dopamina, acetilcolina, norepinefrina e ácido gama-aminobutírico (GABA). Assim, eventos como o stress físico ou psicológico podem desregular significativamente o eixo intestino-cérebro através da ação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, que regula a resposta ao stress, sendo um exemplo desta condição patológica, a síndrome do intestino irritável.<sup>15</sup>

Como referido, existe uma associação entre a disbiose intestinal e a **DP** e **DA**. De facto, há muito tempo que se considera que a **neuroinflamação**, um dos resultados da **imunossenescência**, possa estar relacionada com a progressão de inúmeros distúrbios neurológicos, incluindo a DA e a DP.<sup>6</sup> Relativamente à **DP**, sabe-se que a disfunção motora nestes doentes é, frequentemente, caracterizada pela agregação da proteína alfa-sinucleína ( $\alpha$ -Syn), pelo que, para demonstrar que a MI regulava os défices motores da neuroinflamação, *Sampson et al.* colonizaram ratinhos que hiperexpressavam  $\alpha$ -Syn com a microbiota de indivíduos com DP.<sup>6</sup> Os resultados evidenciaram um aumento da deterioração física, relativamente aos controlos, colonizados com microbiota de indivíduos saudáveis.<sup>6</sup> Ou seja, o fenótipo da doença pode ser reproduzido pela adição de populações bacterianas de doentes com Parkinson, mas não com as dos controlos saudáveis.<sup>15</sup> Apesar do mecanismo pelo qual os microrganismos intestinais afetam a progressão da DP ainda não estar totalmente esclarecido, a descoberta recente de que a  $\alpha$ -Syn está presente nas células endócrinas intestinais antes de surgir no cérebro apoia a teoria de que a patologia da DP tenha origem, inicialmente, no intestino, propagando-se, posteriormente para o SNC.<sup>6</sup> Verificou-se, também que, o início dos sintomas motores típicos da DP eram precedidos, frequentemente, por obstipação e que o nervo vago estava associado a este processo<sup>15</sup>, apoiando esta hipótese. Adicionalmente, a análise da microbiota de doentes com DP demonstrou existir uma associação entre o aumento de *Enterobacteriaceae* e a severidade da instabilidade postural.<sup>15</sup> Quanto à **DA**, a sua etiologia ainda não está esclarecida, contudo sabe-se que a produção e deposição da proteína  $\beta$ -amiloide a nível cerebral é a chave para o seu desenvolvimento e que pode ser responsável pela disfunção sináptica e morte neuronal.<sup>15</sup> No entanto, vários estudos identificaram alterações significativas da quantidade de determinadas *taxa* no intestino de doentes com DA quando comparados com os grupos controlo saudáveis e, também se verificou uma associação entre a composição da MI e os níveis de biomarcadores da DA, no líquido cerebrospinal.<sup>6</sup> Assim, existe uma teoria que coloca a hipótese de que a patogénese da DA possa estar, intimamente, relacionada com o desequilíbrio do microbioma intestinal e que, de facto, possa ter origem no intestino.<sup>6</sup> Na DA, o cérebro apresenta alterações características, nomeadamente, uma reação inflamatória na envoltória das placas amiloides.<sup>15</sup> Tendo isto em conta, analisaram-se subconjuntos específicos da microbiota que pudessem promover inflamação cerebral e verificou-se existir um aumento da quantidade de *Escherichia/Shigella* pro-inflamatória e uma redução da quantidade de *Eubacterium rectale* anti-inflamatória, o que poderia estar relacionado com o estado inflamatório periférico nos doentes com défice cognitivo e amiloidose cerebral.<sup>15</sup> Sabe-se que, tanto a inflamação sistémica crónica como a aguda estão associadas ao declínio da função cognitiva na DA.<sup>6</sup> Foi, também, desenvolvido um estudo, numa *coorte* de idosos residentes num lar que demonstrou existir um padrão de disbiose nos idosos com DA quando comparados com os idosos sem demência.<sup>6</sup> Esta disbiose era caracterizada por uma redução na proporção e prevalência de bactérias com o potencial de sintetizar butirato (ex.: *Eubacterium*, *Clostridium* e *Butyrivibrio*), bem como um aumento de *taxa* potenciadoras de estados pro-inflamatórios (ex.: *Bacteroides dorei* e a *Akkermansia glycaniphila*).<sup>6</sup> Adicionalmente, foi descoberto que as espécies bacterianas diferenciadoras dos microbiomas da DA e de idosos sem demência eram preditores de baixos níveis de expressão de glicoproteína-P (um mediador importante

da homeostasia intestinal, que quando desregulado promove estados pro-inflamatórios), nos doentes com DA.<sup>6</sup> Apesar destas associações, é necessária uma investigação mais profunda das *taxa* e do papel que estas comunidades microbianas desempenham na contribuição da progressão da DA (e noutras doenças neurodegenerativas) para aumentar o conhecimento da relação causal entre a disbiose e o declínio cognitivo, com o objetivo final de prevenção da doença.<sup>6</sup>

Portanto, há uma forte inclinação para uma responsabilidade do microbioma no desenvolvimento destas patologias. Estudos sobre **transplantação fecal** vieram corroborar, ainda mais, esta hipótese, pois, demonstraram que a disbiose do microbioma característica do envelhecimento era suficiente para induzir morbidade em recetores jovens, por exemplo, pela redução de bactérias produtoras de SCFA como a *Lachnospiraceae*, *Faecalibaculum* e *Ruminococcaceae*.<sup>5</sup> Fransen et al. estudaram este efeito e transferiram uma MI envelhecida para ratinhos jovens isentos de microrganismos e identificaram determinadas espécies, dentro da microbiota envelhecida, que promoviam a *inflammaging*.<sup>6</sup> Este efeito foi associado a baixos níveis de *Akkermansia* e a níveis elevados de bactérias TM7 e Proteobacteria, na microbiota envelhecida, sendo que estas alterações da composição da MI estavam relacionadas com inflamação intestinal, libertação de componentes bacterianos inflamatórios para a circulação e aumento da ativação de células T no compartimento sistémico.<sup>6</sup> Além disso, também se verificou o contrário, ou seja, um atraso do envelhecimento de recetores idosos após a transplantação de fezes de doadores jovens, como por exemplo no estudo que envolveu o *killifish* turquesa africano<sup>(3)</sup>, nos quais a transferência de microrganismos intestinais de doadores jovens para recetores de meia idade, após tratamento antibiótico, foi suficiente para expandir significativamente o tempo de vida e atrasar o envelhecimento.<sup>12</sup> Estas associações comprovam a existência de uma relação causal direta entre as comunidades microbianas específicas da idade e o envelhecimento do hospedeiro.<sup>12</sup> Ou seja, o desenvolvimento da *inflammaging* é impulsionado pela disbiose do microbioma intestinal.<sup>6</sup>

Assim, se conseguirmos restituir a homeostasia da MI, iremos conseguir a regressão da *inflammaging*. Em investigações realizadas em ratinhos, constatou-se que os lipopolissacarídeos (LPS) da MI podem acelerar a inflamação associada à idade, sendo que os ratinhos sem *Toll-Like receptor 4* (TLR4), o recetor dos LPS, estão protegidos da *inflammaging*, comprovando que substratos microbianos específicos induzem fenótipos específicos do envelhecimento.<sup>12</sup>

Também, relativamente ao equilíbrio da microbiota necessário para um envelhecimento saudável, podemos considerar os **centenários**, que, como abordado no capítulo do envelhecimento, são tidos como modelos de um envelhecimento bem-sucedido. Vários estudos demonstraram que a composição da MI de **centenários** de **etnias** diferentes e que viviam em **locais geográficos** diferentes exibiam uma maior biodiversidade e representatividade de bactérias intestinais, incluindo Firmicutes, *Bifidobacteria* e produtores de SCFA, alegadamente, com propriedades anti-inflamatórias e homeostáticas, relativamente aos idosos mais novos e aos jovens adultos, refletindo-se numa alteração da funcionalidade da microbiota.<sup>13</sup> De facto, a caracterização metabólica dos **centenários** sugere que existem processos determinantes para uma maior longevidade, nomeadamente, uma remodelação

---

<sup>(3)</sup> Espécie de peixe com tempo de vida curto.

complexa do metabolismo lipídico e dos aminoácidos e da funcionalidade da microbiota intestinal.<sup>15</sup> A nível da microbiota, verificou-se que as alterações que nela ocorrem proporcionam um aumento de produtos secundários do catabolismo de proteínas e de aminoácidos aromáticos, como a fenilacetilglutamina e o sulfato *p*-cresol, e os níveis de 2-hidroxibenzoato, um componente com propriedades anti-inflamatórias.<sup>15</sup> Relativamente as estas alterações, alguns estudos compararam a trajetória da microbiota de adultos para idosos, centenários e semi-supercentenários (105-110 anos), cujos resultados evidenciaram uma diminuição cumulativa da abundância de algumas *taxa* bacterianas simbióticas (principalmente, pertencentes às famílias *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* e *Bacteroidaceae*), com a idade.<sup>1</sup> Contudo, verificou-se que no extremo da longevidade, a diversidade microbiana aumenta novamente: surgem anaeróbios facultativos e bactérias oportunistas “*allochthonous*”, mas ao mesmo tempo parecem surgir alguns microrganismos novos, não encontrados em adultos mais jovens e nos idosos, enquanto se verifica uma prevalência elevada de alguns grupos bacterianos associados à saúde (*Akkermansia*, *Bifidobacterium* e Christensenellaceae).<sup>1</sup>

Concluindo, as alterações na microbiota que ocorrem com a idade estão associadas a alterações fisiológicas do TGI, mas, também, do estilo de vida e hábitos, com um declínio concomitante da função normal do SI, o que pode contribuir para o aumento do risco de infeção e fragilidade.<sup>1,9</sup> Assim, a disbiose intestinal associada ao envelhecimento, afeta o metabolismo e a regulação imune que predispõem os idosos a distúrbios oxidativos e inflamatórios<sup>5</sup>, promovendo o início de várias comorbilidades, frequentemente, presentes nestas idades. Desta forma, o desenvolvimento de técnicas capazes de manipular a MI podem ser a chave para uma melhor gestão e resposta às várias patologias que surgem com a idade e associadas à disbiose, resultando numa diminuição da multimorbilidade nos idosos.

#### 4.2.2. O MICROBIOMA DA PELE

A pele é o maior órgão do corpo humano e atua como uma barreira contra as agressões do meio ambiente.<sup>16</sup> É colonizada por uma vasta comunidade microbiana, distribuída pela derme e epiderme, que é responsável pela manutenção da homeostasia cutânea, desempenhando um papel muito importante na função de barreira da pele.<sup>4,16</sup> Para isso, o microbioma cutâneo permanece dinâmico, ao longo de toda a vida, e o equilíbrio entre a microbiota cutânea e o hospedeiro é a chave para a manutenção da saúde da pele.<sup>16</sup>

A **composição** do microbioma cutâneo depende, principalmente, da fisiologia do local da pele: por exemplo, locais sebáceos são, habitualmente, dominados por membros *Propionibacterium*, enquanto áreas húmidas, como os pés e a fossa cubital, são, habitualmente, colonizadas por *Staphylococcus* e *Corynebacterium*. Esta distribuição está relacionada com o facto dos microrganismos que habitam a pele serem selecionados pela sua capacidade de utilizar os recursos presentes no suor, no sebo e/ou os resíduos de células mortas da pele presentes nas camadas mais externas da epiderme. Sendo a pele um ambiente tão exposto, seria expectável que a composição do seu microbioma fosse menos estável do que a de ambientes mais protegidos, tais como, os ecossistemas intestinal e vaginal; no

entanto, foi demonstrado que a composição deste microbioma é estável, especialmente, em locais sebáceos, como por exemplo, a frente.<sup>4</sup>

Estudos em indivíduos de diferentes **idades** demonstraram que este microbioma estabiliza a sua estrutura composicional por volta dos três anos de idade, semelhante ao que acontece com o microbioma intestinal, mas sofre uma reestruturação dramática na **puberdade**, quando alterações na concentração hormonal estimulam a produção de sebo<sup>4</sup>, sendo que esta função da pele também está associada à colonização pela bactéria comensal *Cutibacterium acnes*.<sup>16</sup>

A primeira grande alteração da microbiota da pele ocorre ao **nascimento**, com a transferência do recém-nascido (RN) de um ambiente in útero quase estéril para um ambiente caracteristicamente rico em microrganismos que rapidamente vão colonizar a pele do RN. É também nesta etapa que se podem encontrar as primeiras diferenças tendo em conta o **tipo de parto**, vaginal ou cesariana, assemelhando-se ao microbioma vaginal ou cutâneo, respetivamente, sendo que os bebés nascidos por cesariana apresentam uma menor diversidade microbiana, o que, possivelmente, justifica a suscetibilidade dos mesmos para determinadas patologias e doenças alérgicas. Além disso, o **tempo de gestação** também pode ter impacto no microbioma cutâneo do latente, em que bebés prematuros apresentam, frequentemente, uma menor diversidade e abundância de espécies bacterianas, que pode ser explicada pela imaturidade da estrutura e anexos da pele.<sup>16</sup>

Como referido anteriormente, **com o tempo**, o microbioma da pele estabiliza e torna-se, progressivamente, mais específico de determinado local, sendo que esta diferenciação se inicia nos primeiros três meses de vida, associando-se à diminuição das espécies *Staphylococcus* e *Streptococcus*.<sup>16</sup> Contudo, tal como no microbioma intestinal, o microbioma cutâneo também pode ser influenciado pelas alterações fisiológicas que ocorrem no sistema que colonizam, neste caso na pele (alterações da secreção de sebo e da função imune e uma diminuição da produção de suor<sup>16</sup>), ao longo do **envelhecimento**. Estas alterações da estrutura e composição do microbioma cutâneo que ocorrem com a idade, são mais evidentes nas mulheres<sup>16</sup>, provavelmente devido às alterações hormonais; em particular, pela diminuição de estrogénios que ocorre na menopausa, uma vez que estas hormonas estão associadas a uma maior espessura e hidratação cutâneas, mas, também, a uma melhor função de barreira e cicatrização.<sup>17</sup> Ou seja, podemos deduzir que esta diminuição dos estrogénios, ao alterar a normal fisiologia da pele, torna-a mais frágil, podendo influenciar a composição da microbiota cutânea. Assim, como a composição desta microbiota é dependente das **características fisiológicas** de cada **região anatómica (sebácea, húmida ou seca)**<sup>4,16</sup>, qualquer distúrbio a este nível poderá ter impacto ao nível da microbiota. Por exemplo, com a idade, o número total de aeróbios (especialmente, *Propionibacterium*) na região malar e na frente de idosos saudáveis diminui, comparativamente aos jovens adultos, o que se correlaciona estreitamente com a diminuição da secreção de sebo, nestes locais e nestas idades.<sup>4,9</sup> Os resultados da investigação de *Wu et al.* comprovam esta afirmação. Neste estudo, *Wu et al.* observaram idosos e centenários da Sardenha e verificaram que a *Propionibacterium* dos microbiomas da frente e da palma diminuía com o avançar da idade, enquanto a abundância de outros géneros (*Preteovella*, *Rothia* e *Veillonella*) aumentava.<sup>4</sup> Além disso, também constataram que a

população de fungos da pele parecia ser menos afetada pelo avançar da idade, com o *Malassezia* a dominar consistentemente os vários locais da pele.<sup>4</sup> No entanto, foi também demonstrado neste estudo que, a idade afeta significativamente a abundância de *Archaea* do microbioma da pele, que aumenta nas idades mais avançadas devido à diminuição dos níveis de sebo e da humidade.<sup>4</sup>

Para melhor caracterizar as alterações que ocorrem ao longo do envelhecimento, vários estudos analisaram o microbioma da pele de indivíduos jovens e idosos (*Tabela 1*), não existindo consenso quanto à modificação da diversidade bacteriana com o envelhecimento. No entanto, com o avançar da idade, verifica-se uma diminuição de *Cutibacterium*, sendo esta alteração mais marcada nas mulheres idosas. O que de facto é concordante com as alterações que ocorrem na pele dos mais idosos, nomeadamente, uma diminuição da produção de sebo, pelo que a pele destes indivíduos é tendencialmente, mais seca.

**Tabela 1 - Descrição de alterações da microbiota cutânea em estudos de envelhecimento**

Nº do estudo	Grupos de estudo	Principais resultados
1	Indivíduos de nacionalidade chinesa: - G1: Idosos (50-60a), ambos os sexos - G2: Jovens (25-35a), ambos os sexos	- <b>Globalmente: idosos</b> com uma <b>riqueza bacteriana inferior</b> aos jovens e uma <b>maior variabilidade intragrupo</b> , independentemente, do sexo. - <b>Idosos vs Jovens:</b> ↑ <i>Enhydrobacter</i> (particularmente, no dorso e narinas); ↓ <i>Cutibacterium</i> (principalmente, em locais húmidos e secos).
2	Indivíduos de nacionalidade chinesa: - G1: Homens Idosos (50-60a) - G2: Mulheres Idosas (50-60a)	- <b>Globalmente: abundância</b> de espécies nos <b>homens idosos inferior</b> à das mulheres idosas, com <b>maior variabilidade intragrupo</b> no G2. - <b>Homens Idosos vs Mulheres Idosas**:</b> ↑ <i>Cutibacterium</i> (particularmente, na glabella e no dorso da mão*); ↑ <i>Anaerococcus</i> (nas narinas); ↓ <i>Staphylococcus</i> (nas narinas); ↓ <i>Alloicoccus</i> (nas narinas).
3	Indivíduos de nacionalidade japonesa: - G1: Mulheres Jovens (<40a) - G2: Mulheres Idosas (≥60a)	- <b>Globalmente:</b> nos 4 locais distintos da pele (couro cabeludo, fronte, região malar e antebraço) as <b>mulheres idosas</b> (G2) apresentavam uma <b>maior riqueza bacteriana</b> vs mulheres jovens (G1). - <b>Mulheres idosas vs Mulheres Jovens:</b> ↓ Actinobacteria (género predominante <i>Cutibacterium</i> ***; exceção: ↑ <i>Corynebacterium</i> ); ↑ Firmicutes (ex.: <i>Streptococcus</i> ), Bacteroidetes (ex.: <i>Prevotella</i> ) e Proteobacteria (ex.: <i>Acinetobacter</i> ), em proporções variáveis de acordo com o local da pele.

Abreviaturas e notas explicativas: a - anos; G1 - Grupo 1; G2 - Grupo 2; vs - versus; ↑ - aumento da quantidade; ↓ - diminuição da quantidade; \*provavelmente devido à presença de mais folículos pilosos e glândulas sebáceas, nos homens; \*\*Tem-se demonstrado que estas diferenças entre sexos ocorrem principalmente pelas diferenças fisiológicas entre os microambientes da pele masculina e feminina, como, por exemplo, hormonas, metabolismo, taxa de transpiração, conteúdo em lípidos e pH, mas também pode estar associada ao uso de cosméticos e à exposição solar.<sup>16</sup>; \*\*\*A diminuição da *Cutibacterium* pode estar associada à diminuição da secreção de sebo observada na pele envelhecida, uma vez que esta espécie é mais lipofílica.<sup>16</sup> (Dados descritos baseados na revisão de Luna P.C.<sup>16</sup>).

Atualmente, sabe-se que a composição da microbiota cutânea é fundamental para o normal funcionamento da pele, pelo que a sua **disbiose** pode estar associada ao desenvolvimento de **doenças**

ou **distúrbios inflamatórios cutâneos** como o acne, que está associado ao aumento da produção de sebo que, por sua vez, está relacionado com um aumento de *Cutibacterium acnes*. Além disso, pensa-se que o microbioma cutâneo, tal como o intestinal, também esteja associado à DP, uma vez que a dermatite seborreica, distúrbio da pele promovido por um aumento da produção de sebo, é um sintoma não-motor da DP. Os doentes com DP e, concomitantemente, dermatite seborreica apresentam uma elevada densidade do fungo *Malassezia* spp. e da bactéria *Streptomyces* spp., que produz compostos orgânicos voláteis complexos, que por sua vez poderão servir como ferramenta diagnóstica não invasiva de DP, num estadio precoce.<sup>9</sup>

Concluindo, ainda existe um longo percurso na investigação do microbioma da pele, nomeadamente, no âmbito das alterações que ocorrem com o envelhecimento e quais as consequências das mesmas na função deste órgão tão importante, uma vez que, atualmente, esta temática está pouco explorada. O estabelecimento desta relação será bastante útil para o desenvolvimento de novas intervenções capazes de restaurar a homeostasia do microbioma cutâneo e, conseqüentemente, de novas estratégias terapêuticas, até mesmo, preventivas para as várias patologias que possam estar relacionadas com a disbiose.

#### 4.2.3. O MICROBIOMA ORAL

A cavidade oral inclui mais de 800 espécies de bactérias (*gram* positivas, *gram* negativas, aeróbias e anaeróbias) e outros microrganismos.<sup>15</sup> A colonização bacteriana da cavidade oral e da orofaringe ocorre, principalmente, nos lábios, dentes, mucosa oral, superfícies supragengival e subgengival, palatos duro e mole e tonsilas.<sup>4</sup> A saliva forma um filme de, aproximadamente, 0.1mm de profundidade em toda a superfície interna da boca e desempenha um papel importante na manutenção da saúde dentária ao regular o crescimento dos microrganismos e ao neutralizar a produção de ácido pelas bactérias<sup>14</sup> influenciando a composição da microbiota oral.

A microbiota da cavidade oral é extremamente diversa, contudo, pensa-se que exista um microbioma *core* presente na maioria dos indivíduos, constituído, principalmente, por bactérias que pertencem aos filos Firmicutes (*Granulicatella*, *Streptococcus*, *Veillonella*), Actinobacteria (*Actinomyces*, *Atopobium*, *Corynebacterium*, *Rothia*), Bacteroidetes (*Bergeyella*, *Capnocytophaga*, *Prevotella*), Proteobacteria (*Campylobacter*, *Cardiobacterium*, *Haemophilus*, *Neisseria*), Fusobacteria, TM7 e Spirochaetes.<sup>4</sup>

Com a proporção de **idosos** na população a aumentar, continuamente, ano após ano, a incidência de **doenças orais**, tais como, cáries dentárias, doença periodontal e distúrbios dos tecidos moles, também aumenta, uma vez que estas são, geralmente, superiores nos idosos. Esta propensão pode depender da degeneração do tecido oral e de infeções microbianas orais, bem como de outras alterações na cavidade oral.<sup>4,14</sup> Também com o **envelhecimento**, ocorre atrofia das glândulas salivares, com conseqüente redução da produção de saliva e alteração da composição e crescimento das bactérias dominantes.<sup>14</sup>

A **periodontite** é um exemplo de um **distúrbio inflamatório oral**, na qual se verifica um aumento de bactérias *gram*-negativas.<sup>9</sup> Desta forma, pensa-se que a incidência das doenças orais esteja

intimamente associada a alterações do microbioma oral e, o facto de ser superior nos idosos, sugere que a flora oral se altera com o envelhecimento<sup>14</sup> e que, por isso, a idade é um FR para doenças orais.<sup>4</sup> As variações da composição da microbiota oral no **envelhecimento** foram avaliadas em estudos que envolveram as comunidades bacterianas orais de idosos. *Percival et al.* estudaram a composição da microbiota oral em idosos ( $\geq 60$  anos) sem doença periodontal e demonstraram que a *Actinomyces* spp. (especialmente, *Actinomyces naeslundii* e a *Actinomyces oris*), estavam significativamente aumentadas no biofilme supragengival destes idosos.<sup>14</sup> Também *Preza et al.* investigaram idosos sem doença periodontal ou cáries e observaram que estes tinham uma diversidade bacteriana maior relativamente aos jovens e adultos de meia idade.<sup>14</sup> Já *Liu S. et al.*<sup>14</sup> investigaram a microbiota do fluído crevicular gengival, da base da língua e da saliva, em vários grupos etários de uma população saudável. Verificou-se que, com o envelhecimento, havia um aumento da abundância de *Eubacterium sulci*, *Stomatobaculum longum*, *Alloprevotella rava*, *Porphyromonas gingivalis*, *Abiotrophia defectiva*, *Porphyromonas endodontalis*, *Parvimonas micra* e *Dialister pneumosintes*, no fluído crevicular gengival; um aumento da abundância de *Dialister pneumosintes*, *Tannerella forsythia*, *Treponema medium* e *Slackia exigua*, na saliva e, na base da língua, apenas se verificou um aumento da abundância de *Alloprevotella rava*.<sup>14</sup> Os resultados deste estudo demonstraram que, com o envelhecimento, ocorre disbiose das bactérias orais e que, na cavidade oral, a diversidade alfa<sup>(4)</sup> tende a diminuir, enquanto a diversidade beta<sup>(5)</sup> apresenta uma tendência crescente, nos três locais estudados.<sup>14</sup> Além disso, num outro estudo, *Singh et al.* analisaram o microbioma oral de indivíduos com envelhecimento saudável e de indivíduos com envelhecimento não saudável e concluíram que o primeiro grupo apresentava uma maior diversidade alfa do que o segundo grupo.<sup>4</sup> Estes estudos sugerem que a diversidade alfa parece estar associada a fenótipos menos envelhecidos e mais saudáveis, enquanto a beta com fenótipos mais envelhecidos e menos saudáveis.

Posteriormente, foram desenvolvidos estudos no sentido de correlacionar estas alterações na microbiota com alguns distúrbios orais comuns no envelhecimento, como a periodontite. Para isso, *Rodenburg et al.* demonstraram que a prevalência de periodontite, com a idade, diminuía em indivíduos colonizados com *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e aumentava naqueles colonizados por *Porphyromonas gingivalis*.<sup>14</sup> O estudo desta relação entre a microbiota e a periodontite torna-se muito importante, pois, recentemente, surgiu uma associação entre a patologia periodontal e aterosclerose, sugerindo que as bactérias da cavidade oral possam desempenhar um papel na patogénese de **aterosclerose** e **DCV**<sup>4</sup>, como o AVC<sup>15</sup>, dada esta ligação entre alguns microrganismos e determinadas patologias. Além disso, o principal agente da periodontite, o *Porphyromonas gingivalis*, é um FR grave para o desenvolvimento de DA<sup>9</sup>, o que nos remete para a importância do estudo deste microbioma, pois poderá estar no cerne do desenvolvimento de muitas outras patologias para as quais ainda não existem terapêuticas eficazes e cujo tratamento possa passar pela manipulação desta microbiota.

---

(4) Diversidade alfa - mede a diversidade da comunidade dentro de uma amostra, frequentemente, descrita em termos de quantidade (riqueza) e distribuição (uniformidade) dos organismos na amostra. De uma forma geral, uma diversidade alfa reduzida é sugestiva de disbiose.<sup>8</sup>

(5) Diversidade beta - avalia as diferenças entre amostras de comunidades diferentes.<sup>8</sup>

Relativamente a outras doenças orais, como as **cáries dentárias**, o principal agente associado a este distúrbio é o *Streptococcus mutans*. Esta bactéria gram-positiva tem a capacidade de produzir uma proteína amiloide que participa na formação do biofilme e aumenta a estabilidade das colónias. No entanto, o papel desta amiloide bacteriana na saúde oral e global ainda não foi investigado.<sup>15</sup>

Importa, também, referir que o próprio envelhecimento da cavidade oral pode agravar a disbiose bacteriana desta região anatómica. Do ponto de vista clínico, de todas as diferentes alterações que ocorrem durante o **envelhecimento**, a **hipossalivação** desempenha um papel essencial na manifestação de **candidíase oral**. A hipossalivação promove uma redução nos níveis de peptídeos e proteínas na boca e uma diminuição da abundância dos componentes com atividade antimicrobiana, como as lisozimas, desencadeando um aumento de *Candida* spp.. Além disso, a evidência demonstra que na placa supragengival, que está associada à formação de cáries, o agente patogénico predominante é a *Candida* spp., especialmente nos indivíduos com mais de 70 anos.<sup>18</sup>

Deste modo, alterações a nível do **microbioma core**, que ocorrem, principalmente, com o envelhecimento, podem prejudicar a fisiologia da cavidade oral e favorecer a manifestação de doenças com conseqüente diminuição da saúde oral. Efetivamente, o estudo de *Socransky et al.* associou organismos bacterianos específicos a doenças, incluindo *Porphyromonas*, *Treponema* e *Tannerella*, que foram classificados como os organismos do complexo vermelho, e, no estudo de *Liu S. et al.*, verificou-se um aumento destas bactérias, com a idade, na saliva e na base da língua, o que poderia explicar a maior propensão a doenças orais, nos idosos.<sup>14</sup>

Com a evolução do conhecimento deste microbioma, podem surgir novas perspetivas acerca da etiologia de várias doenças e podem, também, vir a ser desenvolvidas novas intervenções capazes de prevenir a manifestação de doenças orais, nos idosos, ou, até mesmo, novas abordagens terapêuticas para as doenças já estabelecidas, promovendo a saúde global do hospedeiro, pela aparente relação entre a disbiose oral e outras patologias.

#### 4.2.4. O MICROBIOMA NASAL

Um adulto saudável respira mais do que 7000L de ar por dia, pelo que o trato respiratório superior (TRS) está constantemente banhado pelo fluxo de ar do ambiente exterior. Juntamente com o ar, são inaladas entre 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> células bacterianas por m<sup>3</sup> de ar, por dia. Além destas particularidades biológicas, o TRS está exposto aos parâmetros físico-químicos da atmosfera, incluindo as variações de humidade, oxigénio, fatores imunológicos ou nutrientes.<sup>7</sup>

Tendo em conta este contacto constante com o meio exterior, o estudo do **microbioma nasal** assume especial relevância, uma vez que esta região anatómica pode ser um dos principais meios de acesso dos agentes patogénicos ao interior do organismo, pelo que é importante manter a homeostasia deste local, que se considera estar ligada à composição da microbiota.

Os **locais de amostragem** mais comuns de análise do microbioma nasal são as narinas anteriores (NA), o meato médio (MM) e a nasofaringe, pela sua facilidade de acesso, tendo cada região anatómica uma colonização específica. Tal como no microbioma intestinal, a composição da microbiota nasal

inicial também é influenciada pelo tipo de **parto** e pelo tipo de **alimentação**, sendo que o perfil microbiano associado ao leite materno está relacionado com melhores *outcomes* de saúde, em particular, a uma diminuição da incidência de infecções respiratórias. Na transição da **infância** e **adolescência** para a **idade adulta**, verifica-se uma diminuição da diversidade desta microbiota, mas, simultaneamente, um aumento das abundâncias dos microrganismos que constituem esta comunidade microbiana. O microbioma nasal de **adultos saudáveis** é composto principalmente pelos filos Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes e Proteobacteria, com predomínio dos géneros *Bifidobacterium*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Dolosigranulum* e *Moraxella*, podendo observar-se algumas alterações nestes perfis ao longo das diferentes estações do ano, resultante da exposição constante deste microbioma aos parâmetros físico-químicos atmosféricos que, como referido anteriormente, sofrem alterações naturais ao longo do ano. No entanto, estas características correspondem à **composição global do microbioma nasal**, pois, como supracitado, cada local apresenta uma colonização específica. No que diz respeito às NA, estas são colonizadas, principalmente por Actinobacteria, Firmicutes e, em menor quantidade, por Bacteroidetes, já o MM e do recesso esfenoidal possuem maior abundância de Bacteroidetes e menores quantidades de Firmicutes e Actinobacteria. No entanto, estas diferenças inter-locais vão-se apaziguando com o **envelhecimento**.<sup>7</sup>

Ainda relativamente à transição da idade adulta para idades mais avançadas, um estudo demonstrou que a microbiota nasal dos idosos possuía uma maior abundância de *Streptococcus*<sup>4</sup> e que se assemelhava a uma população mais orofaríngea, sendo constituída, também por *Prevotella*, *Veillonella* e *Staphylococcus*.<sup>7</sup>

O TRS está associado a várias funções, nomeadamente, olfativa e imunológica, mas também à função de filtragem, aquecimento e humedificação do ar inalado que chega aos pulmões. Desta forma, o conceito de disbiose do microbioma nasal remete-nos para alterações ao nível da função olfativa, mas também ao desenvolvimento de infecções do TRS (ITRS).

O olfato modula a nossa perceção do ambiente externo e é fundamental na tomada de decisão e no controlo do nosso comportamento, incluindo o comportamento alimentar e deteção de perigo, e contribui, significativamente, para o componente hedónico da vida quotidiana (exemplo: sabor e perceção de fragância). O risco de disfunção olfativa aumenta com a idade, mas também pode resultar de doenças nasossinusais crónicas, trauma, ITRS ou doenças neurodegenerativas.<sup>19</sup>

Este microbioma está envolvido no normal desenvolvimento do epitélio olfativo, onde estão situados os recetores do olfato, responsáveis por regular este sentido. Ao modular a fisiologia do epitélio olfativo, o microbioma pode alterar a resposta a estímulos de odor. Além disso, os recetores olfativos detetam sinais microbianos, como os SCFA, levando hipoteticamente a uma alteração da perceção olfativa e parece possível que, ao produzirem compostos de cheiro intenso, como o ácido butírico, os microrganismos deste microbioma possam ter impacto na perceção olfativa e no apetite.<sup>19</sup>

O ácido butírico, um produto típico da fermentação anaeróbia do cólon, desempenha um papel importante no equilíbrio energético e está envolvido em vários processos do corpo. As famílias

*Lachnospiraceae* e *Enterobacteriaceae* e o género *Faecalibacterium* são típicos do intestino, capazes de produzir ácido butírico, e estão associados a hiposmia. No entanto, é necessário esclarecer se a abundância de microrganismos produtores de ácido butírico em indivíduos com hiposmia é causa ou consequência da redução da função olfativa.<sup>19</sup>

*Koskinen et al.*<sup>19</sup> analisaram a relação entre função olfativa e o microbioma nasal em voluntários saudáveis. Os resultados demonstraram que *Faecalibacterium* e *Porphyromonas* estavam fortemente associadas a uma redução da função olfativa e que os membros *Corynebacterium* estavam relacionados com uma discriminação e limiar do odor reduzidos.<sup>4,19</sup> Além disso, os indivíduos com *scores* deste limiar mais baixos possuíam um microbioma nasal mais diversificado *versus* indivíduos com *scores* normais.<sup>4,19</sup>

*Rullo et al.* analisaram o microbioma oral e nasal de indivíduos com **degenerescência macular da idade (DMI) neovascular**, recentemente diagnosticada. Relativamente ao microbioma oral, na DMI neovascular, verificou-se um aumento de *Propionibacteriales*, *Rothia*, *Staphylococcus* e *Corynebacteriaceae*, enquanto os controlos saudáveis apresentavam aumento de *Fusobacterium* e *Bacilli*. No microbioma nasal, na DMI, verificou-se um aumento significativo de Proteobacteria, *Actinomyces*, *Gemella*, e *Veillonella* e, quando comparado com o controlo, o *Streptococcus* sofreu a maior alteração relativa, na DMI. Apesar de não ser relativamente abundante, *Burkholderiales* também estava significativamente aumentado na DMI, enquanto o *Clostridia* estava aumentado no grupo controlo.<sup>4</sup>

Alguns estudos indicam que o microbioma nasal possa estar envolvido nas **DP, DA e esclerose múltipla**.<sup>7</sup> Em particular, nas DP e DA, os primeiros sintomas incluem disfunção olfativa.<sup>7</sup> Uma vez que alterações a nível da microbiota estão associadas a disfunção olfativa, isto leva-nos a considerar que a comunidade microbiana possa contribuir para o início da DP.<sup>7</sup> No entanto, uma investigação da microbiota de idosos com DP demonstrou que tanto na DP como nos controlos saudáveis, a composição desta microbiota assemelhava-se à dos adultos de meia idade.<sup>4</sup> Contudo, *Pereira et al.* demonstraram que existia menor abundância de duas *taxa* nos doentes com DP relativamente aos controlos saudáveis, nomeadamente membros da família *Flavobacteriaceae* e do género *Marmoricola*.<sup>7</sup> Outros estudos colocaram a hipótese de que um agente infeccioso transmissível, atualmente desconhecido, possa invadir o cérebro, via TGI e/ou da cavidade nasal, iniciando, assim, o processo patológico no SNC.<sup>7</sup>

Assim, são necessários mais estudos sobre o microbioma nasal, para esclarecer qual o impacto da disbiose a este nível, nas várias doenças, como a DP. Neste sentido, esta evolução, tal como nos outros microbiomas, será importante para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e preventivas das doenças que possam estar relacionadas com a disbiose, manipulando as comunidades microbianas.

#### 4.2.5. O MICROBIOMA PULMONAR

No que diz respeito aos filos presentes nos pulmões, os principais são Proteobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes e Actinobacteria.<sup>4,20</sup> No geral, a microbiota pulmonar apresenta elevada variedade interindividual, sendo dominada por 9 gêneros *core*: *Prevotella*, *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Clostridium*, *Megasphaera*, *Veillonella*, *Staphylococcus*, e *Streptococcus*.<sup>4</sup> Apesar do sistema respiratório e a sua mucosa estarem interconectados, a microbiota pulmonar possui determinadas características que a distinguem do TRS.<sup>4</sup>

Alguns estudos têm associado alterações do microbioma pulmonar ao desenvolvimento de **doenças pulmonares**, como a fibrose quística (FQ) e a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC).<sup>4</sup> No entanto, o conhecimento da relação entre a microbiota e as doenças pulmonares permanece por esclarecer.<sup>4</sup> Os doentes com **DPOC** exibem um aumento significativo de bactérias *gram*-negativas patogênicas com uma diminuição comensurável da diversidade das comunidades bacterianas residentes, comparativamente aos indivíduos saudáveis,<sup>9</sup> sendo o *Haemophilus* spp. o microrganismo mais comumente identificado nas exacerbações da DPOC<sup>20</sup>.

Curiosamente, parece existir uma concordância entre as comunidades microbianas intestinais e as do trato respiratório, pelo que dois ensaios clínicos avaliaram a **influência de probióticos entéricos** ao nível da frequência e da severidade das exacerbações pulmonares em doentes com FQ e verificaram uma diminuição significativa desta frequência nestes doentes relativamente ao grupo com placebo. Especula-se que o benefício advenha da diminuição da inflamação da parede intestinal com efeitos indiretos na inflamação pulmonar, contudo, o mecanismo através do qual os probióticos entéricos influenciam a composição da microbiota pulmonar ainda não está esclarecido. Assim, pensa-se que alterações a nível da MI possam influenciar a microbiota pulmonar e, conseqüentemente, promover o início de outras patologias pulmonares.<sup>20</sup>

Fatores como **poluição do ar**, **tabaco**, **envelhecimento** e **condições patológicas** estão relacionados com alterações na microbiota pulmonar.<sup>4</sup> A evidência associa a perda da diversidade da microbiota pulmonar, principalmente, ao **envelhecimento**, à severidade das **doenças pulmonares** e à **exposição a antibióticos**.<sup>4</sup> *Cox et al.* demonstraram que a diversidade da comunidade bacteriana de doentes com FQ diminuía com a idade e com a severidade da obstrução das vias aéreas (VA) e que esta diversidade era menor na presença da mutação homozigótica.<sup>20</sup>

Relativamente à **patologia asmática**, um estudo desta microbiota em doentes com asma severa revelou diferenças significativas entre diferentes fenótipos inflamatórios.<sup>4</sup> Nos asmáticos, verifica-se um aumento de Proteobacteria e uma redução de Bacteroidetes.<sup>20</sup> Curiosamente, vários estudos associam a administração precoce de antibióticos, em crianças, à manifestação desta patologia, provavelmente, pela disrupção do ecossistema microbiano pulmonar provocada pela antibioterapia.<sup>20,21</sup>

O conhecimento sobre o microbioma pulmonar ainda é muito reduzido pelo que são necessários mais estudos que esclareçam a influência desta microbiota no desenvolvimento das patologias pulmonares que surgem, frequentemente, com o envelhecimento, pois a informação existente desta faixa etária é insuficiente para que se possam estabelecer mais relações causais entre a disbiose e as ARDs

pulmonares. Além disso, a evidência atual demonstra que a manipulação desta microbiota, por exemplo, através de probióticos, poderá ser a chave para uma melhor gestão destas doenças.

#### 4.2.6. O MICROBIOMA GENITO-URINÁRIO

Durante muito tempo, considerou-se que a bexiga e o trato urinário (TU) inferior eram ambientes estéreis.<sup>4</sup> Hoje em dia, sabe-se que isso não é verdade. Assim, tal como nos outros locais do corpo, o microbioma do TU poderá desempenhar um papel importante na manutenção da saúde urinária.<sup>22</sup>

Devido à função dos rins e da bexiga na filtração e no armazenamento de urina (que contém os resíduos resultantes da metabolização), os perfis microbianos e os metabolitos da MI e de outros órgãos podem influenciar a microbiota urinária, cujas alterações têm impacto na homeostasia urinária.<sup>22</sup>

Apesar de, em condições fisiológicas normais, os comensais do **microbioma do trato genito-urinário (TGU)** serem menos abundantes, são altamente variáveis quando comparados com os intestinais, sendo comum, uma maior abundância dos géneros *Lactobacillus* e *Gardnerella*, em coortes femininas saudáveis, e *Lactobacillus* e *Streptococcus*, em coortes masculinas saudáveis. Contudo, não existem sempre resultados consistentes entre os estudos dos comensais do microbioma do TGU, o que pode ser devido aos diferentes tipos de amostras (locais anatómicos) e da metodologia de deteção. No entanto, é de notar que a diversidade da microbiota urinária do homem saudável é superior à da mulher saudável.<sup>4</sup>

Atualmente, sabe-se que alterações a nível do microbioma genito-urinário têm relação com situações clínicas como as **infecções do trato urinário (ITU)**, **cistites intersticiais**, **incontinência urinária**, **urolitíase** e **neoplasias do TGU**, como, a **neoplasia da bexiga**, da **próstata** e do **rim**, condições estas associadas, maioritariamente, à população idosa.<sup>4</sup>

Durante o processo de **envelhecimento**, as **alterações fisiológicas** e do **estilo de vida** do hospedeiro, por exemplo, o declínio da função do SI, diminuição da frequência da atividade sexual, aumento da frequência da exposição a fármacos, podem afetar o microbioma do TGU.<sup>4</sup>

Apesar da microbiota urinária poder estar associada à microbiota vaginal e à microbiota seminal, a evidência demonstra que esta comunidade é distinta da composição microbiana dos locais adjacentes.<sup>4,23</sup>

O **urobioma** (microbioma urinário) é influenciado pela idade, pela menopausa, pelas ITU anteriores e pela genética do hospedeiro e, na generalidade, a diversidade do urobioma aumenta com o envelhecimento.<sup>23</sup> Um estudo realizado em mulheres idosas (idade média 71,8 anos) e mais jovens (idade média 50,0 anos), na China, identificou diferenças significativas da microbiota urinária entre os dois grupos.<sup>4</sup> Com o envelhecimento, verificou-se uma diminuição de *Lactobacillus* e *Bifidobacteria* e um aumento de *Peptococcus*.<sup>4</sup> Contudo, num estudo realizado no Reino Unido, não foram encontradas correlações significativas entre a idade e a diversidade do microbioma da bexiga em mulheres saudáveis, no entanto, verificou-se que o *Lactobacillus* estava relacionado com mulheres em pré-menopausa e o *Mobiluncus* a pós-menopausas.<sup>4</sup>

Na generalidade, os distúrbios inflamatórios estão associados à diminuição da diversidade bacteriana. A análise da urina de doentes com cistite intersticial (distúrbio inflamatório), demonstrou que esta apresentava menor diversidade bacteriana do que o controlo (indivíduos saudáveis), composta por uma quantidade relativa elevada do género *Lactobacillus*. Contudo, são necessários mais estudos que esclareçam se esta alteração é causa ou consequência, uma vez que este género é considerado benéfico a nível intestinal e vaginal.<sup>22</sup>

A incontinência urinária é um distúrbio frequente nas mulheres e surge, principalmente, com o avançar da idade. Um estudo focado na microbiota urinária, em mulheres com incontinência urinária, demonstrou que esta microbiota formava seis tipos comunitários (urotipos), que não foram significativamente associados à incontinência urinária, mas que estavam relacionados com a idade. O grupo mais jovem (<51 anos) apresentava maior proporção de mulheres com um urotipo dominado por *Lactobacillus* (quantidade relativa de *Lactobacillus* >89%). As mulheres mais jovens sem o urotipo dominado por *Lactobacillus* apresentavam uma incidência significativamente elevada de incontinência urinária.<sup>4</sup> Contudo, esta associação não se verificou para as mulheres mais velhas.<sup>4</sup>

Relativamente ao **microbioma vaginal**, este é o segundo microbioma humano mais estudado, dada a sua relação com o estado de saúde das mulheres.<sup>4</sup>

O ecossistema vaginal é, particularmente, dinâmico e sofre alterações composicionais e funcionais ao longo da vida da mulher, principalmente, relacionadas com as alterações hormonais, sendo as mais evidentes na puberdade, gravidez e início da menopausa. Este microbioma é caracterizado por diferentes graus de dominância de diferentes espécies de *Lactobacillus* ou pela sua ausência. Um ambiente vaginal dominado por espécies de *Lactobacillus* está associado a melhor saúde vaginal, visto que este grupo bacteriano é considerado a chave para o equilíbrio ecológico do ambiente vaginal. As espécies de *Lactobacillus* são responsáveis pela produção de metabolitos como ácido láctico e peróxido de hidrogénio, que contribuem para a manutenção do valor saudável do pH vaginal, bem como a criação de um microambiente que previne a colonização por agentes patogénicos anaeróbios e microaerófilos.<sup>4</sup>

Uma microbiota vaginal com uma redução da abundância de *Lactobacillus* e rica noutras espécies bacterianas, frequentemente, aeróbias (ex: *Streptococcus*, *Atopobium*, *Megasphaera*, *Prevotella*) está associada a maior probabilidade de doenças como vaginose bacteriana ou, até mesmo, parto pré-termo (PPT).<sup>4</sup>

O **tabagismo**, a **dieta**, a **higiene** e a **atividade sexual** acrescentam complexidade à descrição da dinâmica do microbioma vaginal.<sup>4</sup> Enquanto a **puberdade** é conhecida por representar o momento das alterações mais dramáticas do microambiente vaginal, a **gravidez** é de maior interesse dada a contribuição comprovada deste microbioma no trabalho de parto e PPT.<sup>4</sup> A **menopausa** causa alterações do ambiente vaginal que incluem a diminuição da espessura da camada de muco, dos níveis de estrogénio e da produção de glicogénio.<sup>4</sup> Estas alterações fisiológicas são acompanhadas por modificações do microbioma residente e manifestam-se, geralmente, numa diminuição da proporção de membros *Lactobacillus* e da produção de ácido láctico, resultando num aumento do pH que,

possivelmente, torna a vagina mais suscetível a infecções e exacerba os sintomas vaginais associados à atrofia vulvovaginal (AVV), e num aumento da biodiversidade.<sup>4,24</sup>

A AVV e os sintomas genito-urinários da menopausa, como ardor, secura, irritação, dispareunia, corrimento e/ou hemorragias ocasionais, são experienciados por, aproximadamente, metade das mulheres pós-menopáusicas ocidentais.<sup>4,24</sup> As **mulheres pós-menopáusicas** assintomáticas ou com sintomas ligeiros apresentavam uma predominância significativamente maior de *Lactobacillus* e, conseqüentemente, uma menor biodiversidade, do que aquelas que apresentavam sintomas vaginais mais severos, cujas amostras estavam enriquecidas em bactérias como *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Peptoniphilus* e *Bacillus*.<sup>4</sup> Muitos estudos demonstraram que a terapêutica de substituição hormonal, além de ser eficaz na redução dos sintomas da menopausa, influencia, favoravelmente, o microbioma vaginal, ao aumentar a quantidade de *Lactobacillus* e favorecer o restabelecimento do microambiente vaginal, assemelhando-se ao das mulheres pré-menopáusicas, isto é, maior produção de glicogénio e pH mais baixo.<sup>4</sup> Contudo, esta eficácia não se verifica em todas as mulheres, provavelmente, por fatores genéticos ou fisiológicos que talvez pudessem ser ultrapassados através da personalização da terapêutica, nomeadamente, a dose, o modo de administração, os estrogénios utilizados e, até mesmo, o tempo de tratamento.<sup>24</sup> Tudo isto sugere que a manutenção de um microbioma vaginal dominado por *Lactobacillus* é relevante para garantir uma boa QoL às mulheres pós-menopáusicas.<sup>4</sup> Por esta razão, tem sido proposta e explorada a possibilidade da utilização de probióticos, orais ou administrados localmente, durante a gestão da AVV em mulheres envelhecidas.<sup>4</sup> Alguns estudos salientaram que produtos baseados em *Lactobacillus* têm a capacidade de aumentar o predomínio deste género nas mulheres pós-menopáusicas.<sup>4</sup>

Atualmente, não existe uma comparação direta entre a microbiota da bexiga e a **microbiota seminal**. Contudo, a comparação das comunidades bacterianas do sémen e da urina do primeiro jato demonstrou que estes partilhavam um terço das espécies. Para além disso, até agora, subsistem dúvidas se diferentes locais genito-urinários possuem um microbioma único.<sup>4</sup>

São necessários mais estudos que correlacionem a **microbiota genito-urinária** e o **envelhecimento**, uma vez que o conhecimento atual nos remete para a importância desta comunidade bacteriana na homeostasia do TGU e que a sua disbiose pode despoletar distúrbios a este nível. Ao ser desvendada esta relação, entre a microbiota e o envelhecimento, poderemos desenvolver novas intervenções que visem melhores *outcomes* em saúde.

## 5. O ESTILO DE VIDA E O MICROBIOMA

Como referido anteriormente, o declínio fisiológico, imunológico e cognitivo que ocorre com a idade avançada é fortemente influenciado pelo estilo de vida, hábitos sociais e estado nutricional.<sup>1</sup>

A primeira evidência da influência dos alimentos e do exercício físico (EF) na saúde surge no *Corpus Hippocratic* no século V a.c..<sup>1</sup>

Apesar das grandes variações interindividuais e das flutuações ao longo do tempo, existem padrões semelhantes de modificação do microbioma associados a fatores ambientais e do hospedeiro.<sup>15</sup> De facto, nos seres humanos saudáveis, a composição e função da microbiota é modulada, fisiologicamente, por múltiplos fatores ambientais, entre os quais a **localização geográfica**, o **EF** e os **hábitos alimentares**.<sup>13</sup> Os **fatores genéticos** também influenciam a composição da microbiota, no entanto, de uma maneira menos efetiva.<sup>13</sup>

As comunidades microbianas de **adultos saudáveis** exibem uma forte resiliência aos stressores (doenças agudas, fármacos, estilo de vida e hábitos alimentares), contudo, cada um deles pode deixar a sua marca na composição microbiana em termos de biodiversidade e equilíbrio entre as bactérias simbióticas e patobióticas. O **envelhecimento**, especialmente, após os 70 anos de idade, está associado a alterações particulares da composição da microbiota devido à acumulação dos efeitos dos eventos stressores, ao envelhecimento fisiológico do sistema gastrointestinal e à alteração do estilo de vida e dos hábitos alimentares. Desta forma, as diferenças interindividuais da composição da microbiota tendem a ser enfatizadas com a idade. No entanto, a velocidade e magnitude de recuperação da composição da microbiota prévia após um insulto, como um ciclo de tratamento antibiótico oral, depende do meio ambiente onde o indivíduo vive e do estado geral de saúde.<sup>13</sup>

O **local de habitação** também pode ser um fator condicionante do microbioma. Por exemplo, verifica-se uma clara diferença entre o microbioma de idosos **institucionalizados** e o de idosos que habitam na **comunidade**.<sup>6</sup> Sabe-se que, em idosos residentes em lares, existe uma perda da microbiota associada à comunidade, com padrão disbiótico associado à escassez dos organismos produtores de butirato.<sup>6</sup> Nos lares, há exposição frequente a medicamentos, incluindo antibióticos, dietas mais pobres e uma prevalência de agentes patogénicos aumentada, com influência negativa no microbioma, nomeadamente, a perda de espécies benéficas.<sup>6</sup> Um estudo analisou a microbiota nasal de indivíduos idosos e os resultados revelaram ausência de diferenças na diversidade entre os idosos institucionalizados e aqueles residentes na comunidade.<sup>4</sup> No entanto, as abundâncias relativas de *Lactobacillus reuteri*, *Streptococcus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Rothia mucilaginosa* estavam aumentadas nos idosos institucionalizados.<sup>4</sup>

O *Clostridium difficile* é o agente patogénico mais frequente nas infeções bacterianas associadas aos cuidados de saúde (incluindo, a institucionalização) e ao envelhecimento. Além disso, um estudo demonstrou que, idosos com infeção por *Clostridium difficile* (ICD) residentes em lares tinham mais comorbilidades do que os residentes sem ICD, incluindo DM, incontinência urinária ou DPOC. Efetivamente, nos idosos, durante a ICD, ocorre diminuição da diversidade bacteriana, inclusive de bactérias promotoras de saúde como *Faecalibacterium* e *Bifidobacterium*.<sup>1</sup>

Estudos conduzidos em lares demonstraram que as características da composição da MI dos residentes eram muito similares, em parte, atribuível aos regimes alimentares fixos, à mobilidade limitada e à diminuição da exposição ao ambiente externo, fatores estes favorecedores de disbiose, culminando num aumento da fragilidade e de comorbilidades nestes indivíduos. As formas mais **severas de disbiose** foram documentadas em idosos com multimorbilidades e hospitalizados, onde a

doença aguda, as doenças crónicas subjacentes, a polifarmacoterapia e a inatividade forçada funcionam como disruptores da MI. Foram observadas alterações semelhantes da composição desta microbiota em centenários com declínio do estado de saúde e a aproximarem-se do fim da vida.<sup>13</sup>

Atualmente, sabe-se que a composição da microbiota também é influenciada pela **localização geográfica**. Um estudo comparativo da composição microbiana em quatro países Europeus identificou diferenças estruturais, também relacionadas com a idade, que diferiam entre países. No entanto, verificam-se, repetidamente, algumas tendências na população idosa, como a diminuição de bifidobacterias. A análise da MI demonstrou claramente uma alteração para uma comunidade dominada por *Clostridium* cluster IV, na população idosa irlandesa, relativamente aos adultos jovens; mas esta observação foi o inverso nos idosos Australianos e Finlandeses. Este facto pode-se atribuir à inclusão do género *Faecalibacterium*, que apresenta um padrão específico de país, com níveis elevados em populações francesas, alemãs, suecas e irlandesas e níveis reduzidos em *coortes* italianas, espanholas e chinesas. No entanto, apesar das discrepâncias entre países diferentes, verificadas nestes estudos, existe consenso global de que as variações na composição microbiana intestinal na senescência envolvem frequentemente a redução dos géneros *Bifidobacterium* e *Faecalibacterium*.<sup>1</sup>

Paralelamente, foram detetadas diferenças significativas desta microbiota entre idosos do **meio rural** e **urbano**.<sup>15</sup> Este facto dever-se-á, em parte, à exposição a um ambiente mais poluído e a um estilo de vida mais sedentário associado a padrões alimentares menos equilibrados, no meio urbano, provavelmente, pela facilidade de acesso a *fast-foods*, por exemplo; ao contrário do que acontece no campo, em que, além do ar atmosférico ser menos poluído, o estilo de vida, incluindo hábitos alimentares, dos indivíduos que nele habitam é, tendencialmente, mais saudável.

A **poluição, tabagismo e exposição cumulativa a radiação UV** a que o indivíduo é sujeito, ao longo da sua vida, também alteram a estrutura da pele.<sup>4</sup> Estes fatores reunidos, habitualmente, determinam uma diminuição do suor, do sebo e da homeostasia imune, resultando em alterações na fisiologia cutânea (ex: pH, composição lipídica).<sup>4</sup> Estas alterações fisiológicas, em última análise, promovem alterações no microambiente que afetam a composição do microbioma da pele.<sup>4</sup> *Ying et al.* observaram populações urbanas e rurais de Shanghai e demonstraram que, mesmo que a idade tivesse um efeito na composição do microbioma cutâneo, o ambiente rural/urbano era o fator mais relevante para este microbioma.<sup>4</sup> Por outro lado, a exposição ao **fumo de tabaco**, quer ativamente ou passivamente, está associada a um risco elevado de cancro, periodontite e DCV, mas também a doenças respiratórias crónicas, como a DPOC e a asma, e infeções respiratórias agudas.<sup>7</sup> O fumo do tabaco contacta direta e imediatamente com a superfície nasal, pelo que tem um impacto direto neste microbioma pela privação de oxigénio e atividade antimicrobiana.<sup>7</sup> Além disso, o fumo do tabaco suprime a microbiota comensal normal das VA e favorece os agentes potencialmente patogénicos (*H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *Campylobacter spp.*, *Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus pyogenes*).<sup>7</sup> Só após um ano de cessação tabágica, ocorre o restabelecimento da composição do microbioma, assemelhando-

se aos padrões microbianos dos não fumadores, juntamente com uma diminuição dos agentes patogênicos oportunistas.<sup>7</sup>

Importa ainda referir que, os **estilos de vida modernos** são caracterizados pela transição de alimentos tradicionais para produtos industrializados e processados, uso de antibióticos e vacinas, medidas de higiene extremas, aumento do *ratio* de cesarianas e uso de fórmula em detrimento de leite materno.<sup>4</sup> De acordo com a “**hipótese da higiene**”, estes fatores têm um impacto dramático na microbiota ao reduzir a exposição aos simbiontes microbianos e promovendo a degradação do microbioma *core*.<sup>4</sup> Assim, concluímos que os **fatores ambientais** influenciam a composição da microbiota, que, por sua vez, influencia o desenvolvimento de determinadas patologias. Desta forma, a microbiota deveria ser considerada como a ponte entre a influência ambiental e a saúde do hospedeiro.<sup>13</sup> Contudo, também o **impacto do estilo de vida** no microbioma das várias regiões anatómicas do corpo humano, ainda, está pouco explorado, pelo que são necessários mais estudos que clarifiquem a influência do estilo de vida na composição e diversidade da microbiota dos vários locais do organismo e o impacto consequente a nível do envelhecimento, para que possam ser desenvolvidas novas medidas, no âmbito dos estilos de vida, no sentido de proporcionar um envelhecimento mais saudável.

### 5.1. A ATIVIDADE FÍSICA E O MICROBIOMA

O envelhecimento promove alterações fisiológicas *major* que podem afetar negativamente a função física, incluindo diminuição progressiva da massa muscular e aumento de massa gorda.<sup>13</sup>

Vários estudos demonstraram que, nos idosos muito ativos, existia um atraso significativo da acumulação de gordura corporal e da perda de massa magra, na velhice.<sup>13</sup> A AF é uma forma eficaz no atraso do envelhecimento e na prevenção e gestão de doenças, ao contribuir para a diminuição do índice de massa corporal (IMC), da percentagem de massa gorda e dos níveis de glicose e de insulina, em jejum.<sup>25</sup> Desta forma, está associada à diminuição do risco de doenças cardíacas, AVC, HTA, DM, neoplasias e osteoporose, e, além disso, tem, também, eficácia demonstrada na melhoria de estados depressivos.<sup>25</sup> Também, estudos com animais demonstraram que a AF melhora a diversidade da MI.<sup>25</sup> Além disso, indivíduos com diferentes níveis de AF apresentavam diferentes composições da MI, sugerindo que o EF possa ter um efeito benéfico na saúde ao modular esta microbiota.<sup>13,26</sup> Por exemplo, um estudo da MI de atletas profissionais demonstrou que níveis de AF elevados estavam associados a maior diversidade alfa.<sup>13</sup> Este aumento desta diversidade nestes indivíduos, pode estar correlacionado com a melhoria do estado metabólico e com a redução da inflamação.<sup>25</sup> Contudo, outros estudos em idosos, não detetaram diferenças a nível da diversidade alfa em detrimento do nível de AF dos participantes.<sup>13</sup> Pensa-se que a idade biológica, e não a idade cronológica, esteja associada à diminuição da diversidade da MI, podendo ser uma razão pela qual alguns estudos não tenham identificado uma associação entre o nível de AF e a diversidade alfa nos indivíduos idosos.<sup>13</sup>

Num estudo realizado numa população idosa americana, a diversidade alfa era muito diferente entre indivíduos com diferentes frequências de AF, porém, nos participantes obesos, aqueles com maior frequência de exercício apresentavam uma maior diversidade alfa. Além disso, esta diversidade

aumentava com o aumento do IMC, enquanto, de um modo geral, a obesidade está associada a uma baixa diversidade da MI. Assim, nos idosos, o **peso** e a **idade biológica** do indivíduo parecem influenciar a associação da diversidade alfa com o nível de AF. Neste contexto, deverá ser tido em conta que a idade biológica é potenciada pela obesidade prolongada e pelo estilo de vida sedentário.<sup>13</sup> Um estudo desenvolvido por *Taniguchi et al.*<sup>27</sup> envolvendo homens **idosos** japoneses (62-76 anos), distribuídos em dois grupos: grupo controlo e grupo submetido a um programa de exercício físico aeróbio (EFA) durante cinco semanas, com alternância para o regime oposto por mais cinco semanas, revelou uma diminuição significativa da quantidade relativa de *Clostridium difficile* durante os períodos de exercício de ambos os grupos e um aumento da quantidade relativa do género *Oscillospira*. No entanto, esta última alteração só foi detetada durante o período de exercício do primeiro grupo controlo, enquanto no primeiro grupo submetido ao programa de exercício não foram encontradas alterações significativas.<sup>13,27</sup> Estas alterações foram associadas à melhoria de variáveis cardiometabólicas: as alterações de *Oscillospira* foram correlacionadas com o aumento dos níveis de colesterol HDL e com a diminuição da hemoglobina glicada (HbA1c), enquanto as alterações da abundância do *C. difficile* durante o exercício foram associadas ao aumento do pico de consumo de oxigénio, à diminuição do índice tornozelo-braço e da HbA1c.<sup>27</sup> Apesar destes resultados demonstrarem que o exercício de endurance, a curto tempo, tem um efeito pequeno na MI dos idosos, essa pequena alteração demonstrou ser benéfica a nível cardiometabólico.<sup>27</sup> O prolongamento do período de tempo deste estudo, poderia demonstrar efeitos mais significativos, uma vez que o efeito do exercício regular na MI pode demorar meses a anos a manifestar-se.<sup>27</sup>

*Morita et al.*<sup>26</sup> realizaram um estudo com mulheres sedentárias ( $\geq 65$  anos) divididas em dois grupos: um submetido a treino muscular do tronco e outro a um treino de EFA (caminhadas rápidas). Os resultados demonstraram, no grupo submetido ao EFA, uma diminuição do *Clostridium* subcluster XIVa e um aumento da abundância de *Bacteroides*, tendo sido este aumento mais significativo nos indivíduos que aumentaram o tempo despendido na caminhada rápida, cuja intensidade era igual ou superior a três equivalentes metabólicos<sup>(6)</sup> por mais de vinte minutos.<sup>26</sup> De facto, esta intensidade tem sido associada à redução da incidência de osteoporose, síndrome metabólica, HTA e hiperglicemia.<sup>26</sup> Em associação ao aumento de *Bacteroides*, neste grupo, observou-se um aumento da aptidão cardiorrespiratória.<sup>26</sup> Relativamente ao outro grupo, não se verificaram alterações da composição da MI, apesar de se ter observado uma melhoria da aptidão cardiorrespiratória, provavelmente, pelo fortalecimento dos músculos respiratórios.<sup>26</sup> A nível laboratorial (ex: níveis de glicose plasmática em jejum, triglicédeos plasmáticos e resistência à insulina) não foram detetadas alterações em nenhum grupo, após a intervenção.<sup>26</sup> Neste estudo, foi ainda possível associar o EFA à melhoria do padrão de evacuação, que permaneceu inalterado no outro grupo.<sup>26</sup> Existem alguns mecanismos capazes de explicar o facto do EFA ser capaz de aumentar os níveis de *Bacteroides* intestinal.<sup>26</sup> A diminuição da motilidade

---

<sup>(6)</sup> Múltiplo da taxa metabólica basal, equivale à energia suficiente para um indivíduo se manter em repouso, representado na literatura pelo consumo de oxigénio de aproximadamente 3,5 ml/kg/min. O gasto de energia expresso em equivalentes metabólicos, representa o número de vezes pelo qual o metabolismo de repouso foi multiplicado durante uma atividade.<sup>32</sup>

intestinal leva a impactação fecal e a obstipação, aumentando o tempo do trânsito intestinal.<sup>1</sup> Um trânsito intestinal lento leva à alteração da disponibilidade e da absorção de nutrientes, à diminuição da estabilidade e da diversidade das comunidades microbianas – pois o prolongamento do tempo de trânsito cólico promove aumento do pH do cólon proximal para distal, que, conseqüentemente, tem impacto a nível da microbiota<sup>26</sup> –, à constrição do revestimento da mucosa e, subseqüente, disfunção da barreira intestinal, e ao aumento da inflamação, todos eles manifestações comuns do envelhecimento do TGI.<sup>1</sup> O EFA (*jogging, cycling*), com intensidade moderada, diminui o tempo de trânsito intestinal em pessoas saudáveis e em indivíduos de meia-idade com obstipação crônica, provavelmente, pelo aumento do fluxo sanguíneo visceral e libertação de hormonas gastrointestinais, pela estimulação mecânica e pelo fortalecimento dos músculos abdominais.<sup>26</sup> Além disso, o EFA aumenta as concentrações fecais de SCFA, que reduzem ligeiramente o pH do lúmen cólico.<sup>25,26</sup> As espécies *Bacteroides* preferem condições ligeiramente ácidas (pH 6.7) para a sua sobrevivência no lúmen cólico, enquanto o seu crescimento é limitado tanto num pH 5.5<sup>26</sup> como em condições mais alcalinas. Isto pode explicar a razão pela qual o EFA aumenta a *Bacteroides* intestinal, no entanto, é necessário analisar mais detalhadamente os fatores subjacentes.<sup>26</sup>

As espécies de *Bacteroides* são bactérias oportunistas e a maneira como afetam a saúde do hospedeiro, positiva ou negativamente, depende das características do ambiente intestinal do mesmo.<sup>26</sup> As *Bacteroides* spp. desempenham um papel protetor contra as doenças inflamatórias intestinais, mas, também podem aumentar a suscetibilidade para doenças alérgicas crônicas (início precoce de eczema atópico), em crianças.<sup>26</sup> Contudo, níveis baixos de *Bacteroides* estão associados a maior prevalência de obesidade e síndrome metabólica, pois estas espécies podem contribuir para a supressão da disfunção metabólica.<sup>26</sup> No estudo de *Morita et al.*, o aumento de *Bacteroides* intestinal no grupo submetido ao EFA não diminuiu a resistência à insulina, o que pode ser justificado pelo facto de, apesar de sedentários, os indivíduos incluídos serem saudáveis e apresentarem uma boa sensibilidade à insulina de base, tornando mais difícil atingir alguma melhoria neste parâmetro após o exercício.<sup>26</sup> Assim, seria importante investigar se o EFA poderia melhorar a sensibilidade à insulina, através do aumento de *Bacteroides* intestinal, em obesos e/ou em indivíduos resistentes à insulina.<sup>26</sup> Este estudo de *Morita et al.* sugere que o EFA pode modificar de forma benéfica a MI em mulheres idosas saudáveis.<sup>26</sup> Portanto, uma abordagem prática como o EFA, poderá constituir uma estratégia para atingir a otimização da MI em humanos e, assim, prevenir a manifestação de vários tipos de doenças.<sup>26</sup> Este estudo vem reforçar os resultados de um outro envolvendo mulheres Finlandesas pré-menopáusicas, nas quais uma maior aptidão cardiorrespiratória (consumo máximo de oxigénio elevado) estava associada a maiores proporções de *Bacteroides*.<sup>13</sup>

Uma investigação realizada com jogadores de rugby demonstrou que estes apresentavam maior diversidade da MI e um aumento da quantidade de *Akkermansia* – bactéria correlacionada com a prevenção de DM – quando comparados com adultos sedentários.<sup>26</sup> Isto leva-nos a equacionar a hipótese de que poderemos prevenir a DM e, até mesmo diminuir a sua incidência, através da alteração do estilo de vida, nomeadamente, adotando padrões mais ativos.

Noutro estudo realizado em roedores, seis dias de exercício aumentou a quantidade de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, que são amplamente reconhecidas como bactérias intestinais promotoras de saúde, e reduziu a *Turicibacter* spp., associada a disfunção imune e a doenças intestinais.<sup>26</sup>

Também o EF vigoroso associado a outros fatores, como probióticos e uma alimentação rica em fibras, tem o potencial de aumentar as *Bifidobacteria* e *Lactobacillales*, que contribuem para a saúde intestinal, prevenindo diarreia e várias infeções e condições alérgicas e inflamatórias; e que estão, frequentemente, diminuídas nos idosos, resultando em disfunção da barreira intestinal. No estudo de *Morita et al.* não se verificou qualquer alteração nestas espécies bacterianas, provavelmente, pela curta duração do programa.<sup>26</sup>

*Fart et al.*<sup>28</sup> desenvolveram ensaios de comparação da composição da microbiota entre idosos residentes na comunidade (inatividade física) e outro constituído por atletas séniores de *orienteering*<sup>(7)</sup> (fisicamente ativos). Os idosos fisicamente ativos (*Orienteers*) apresentavam uma microbiota mais homogénea com maior abundância de *Faecalibacterium prausnitzii* relativamente aos idosos que viviam na comunidade. Apresentavam, também, uma redução da quantidade de *Parasutterella excrementihominis* e de *Bilophila* não classificada, bactérias que têm sido associadas a patologia gastrointestinal. Este grupo de séniores foi considerado como um potencial modelo de envelhecimento saudável, uma vez que apresentavam os três principais componentes de envelhecimento saudável: resistência física, capacidades cognitivas e interação social. Neste mesmo estudo, os idosos da comunidade (sedentários) *vs orienteers*, apresentavam um aumento da quantidade das espécies bacterianas *Parasutterella excrementihominis* e *Bilophila wadsworthia*, que apesar da sua função ser pouco conhecida, ambas as espécies têm sido associadas a uma saúde intestinal mais frágil.<sup>28</sup>

A abundância de *Parasutterella excrementihominis* foi, previamente, associada a diferentes efeitos na saúde do hospedeiro, nomeadamente, à DII, síndrome do cólon irritável, obesidade, DM e esteatose hepática. Já a *Bilophila* é uma bactéria que metaboliza compostos sulfatados, sendo produtora de sulfureto de hidrogénio (H<sub>2</sub>S), composto que pode desencadear inflamação e exercer efeitos geno e citotóxicos nas células epiteliais, com consequente dano da função da barreira intestinal. Estas bactérias sulfidogénicas têm sido correlacionadas com a etiologia de doenças metabólicas crónicas, patologias, habitualmente, presentes nos mais idosos.<sup>28</sup>

De facto, o excesso de peso (IMC>25) é um problema de saúde global.<sup>25</sup> Segundo a Organização Mundial de Saúde, a nível mundial, em março de 2022, mais de 1 bilião de pessoas sofriam de obesidade.<sup>29</sup> Um estudo realizado em ratinhos com obesidade induzida por dieta rica em gordura, demonstrou que AF era capaz de contrabalançar o desequilíbrio microbiano, protegendo a barreira intestinal e melhorando a homeostasia dos ácidos biliares<sup>25</sup>, o que corrobora a possibilidade da AF em modular a MI.

---

(7) *Orienteering* – Desporto de *outdoor* que envolve a localização geográfica específica de lugares, com recurso a um mapa ou uma bússola.

No estudo observacional de *Zhu Q. et al.*, verificou-se que o EF regular restabelecia, parcialmente, as proporções bacterianas de idosos com excesso de peso, diminuindo a flora microbiana prejudicial e aumentando a flora benéfica, aproximando-as às dos idosos com um IMC normal.<sup>13</sup>

Por outro lado, outra investigação demonstrou que, apesar do EF regular ser importante para a manutenção estável da MI, em idosos, a diversidade alfa não estava significativamente diferente entre os idosos que realizaram EF regular e aqueles que não realizaram<sup>28</sup>, tal como já tínhamos concluído anteriormente. Além disso, também se tem verificado que, nos humanos, as alterações induzidas pela AF na diversidade microbiana beta dependem do grau de obesidade.<sup>25</sup> Outros ensaios demonstraram que níveis elevados de AF e de aptidão cardiorrespiratória estão associados a concentrações fecais elevadas de SCFA, em adultos.<sup>28</sup> Assim, pode ser necessário melhorar a aptidão cardiorrespiratória através do EFA, como a caminhada rápida, quando o objetivo é modificar a MI.<sup>26</sup>

A evidência recente indica que a AF, independentemente da dieta, pode induzir alterações positivas da composição do microbioma intestinal.<sup>28</sup> No entanto, é necessário clarificar os mecanismos pelos quais o exercício exerce o seu efeito na composição da MI<sup>26</sup>, visto que, atualmente, ainda não existe um consenso no âmbito desta temática.

No geral, os resultados contraditórios relativamente às alterações da composição da MI induzidas pelo exercício, em idosos, podem ter como justificação o peso, o estado metabólico e inflamatório, bem como a presença de doenças.<sup>13</sup> Globalmente, sabe-se que um estilo de vida fisicamente inativo, juntamente com uma dieta rica em HC refinados e pobre em fibras alimentares, está associado à degradação do microbioma e a um risco elevado de desenvolver doenças crónicas.<sup>28</sup>

É, também, necessário esclarecer o efeito das diferentes modalidades de exercícios, da frequência e da intensidade dos mesmos a nível da microbiota. Da mesma forma, seria importante distinguir os efeitos entre a AF a curto e a longo prazo.<sup>13</sup>

Todos estes fatores também devem ser investigados nos restantes microbiomas, além do intestinal – que atualmente é o mais explorado e, ainda assim, existem muitos detalhes por esclarecer, relativamente a este microbioma, como constatámos –, visto que a AF constitui umas das intervenções não farmacológicas mais eficazes na prevenção da deterioração da capacidade física associada ao envelhecimento, cujo efeito parece estar relacionado com a sua capacidade em modular a microbiota.

## **5.2. A DIETA E O MICROBIOMA**

Dados recentes demonstram, claramente, que, o tipo de alimento e a quantidade consumida são determinantes para a saúde. Os componentes da dieta não atuam através da regulação direta dos processos do organismo, mas sim, através da modificação da fisiologia do microbioma.<sup>9</sup>

A diminuição da abundância de Firmicutes e Actinobacteria e o aumento da quantidade de Proteobacteria, que ocorrem ao longo do envelhecimento, podem ser despoletadas por défices nutricionais, tais como, um consumo reduzido de nutrientes específicos, nomeadamente, fibras e proteínas alimentares, importantes para a manutenção das funções imunes e gastrointestinais<sup>28</sup>, mas

também de ferro, vitaminas do grupo B (incluído ácido fólico) e vitamina D, cujo consumo, nos idosos, muitas vezes está abaixo dos níveis recomendados<sup>1</sup>.

Estudos anteriores verificaram que a **dieta estilo ocidental**, rica em gordura saturada e baixa em fibras, leva a uma diminuição da diversidade da MI, com prejuízo do perfil metabólico. Em contrapartida, verificaram também que a adição de fibras alimentares, frutas e vegetais era capaz de alterar a composição microbiana, através do aumento da diversidade e do número de espécies bacterianas, inclusive, *F. prausnitzii*, um dos membros mais importantes entre as bactérias produtoras de butirato, no cólon humano, e, por isso, um marcador de um intestino saudável, que pertence ao *Clostridium* cluster IV.<sup>28</sup>

O consumo moderadamente elevado de **proteínas** ( $\approx 1-1,2$  g/kg de peso corporal/dia) é considerado uma medida nutricional fundamental nos idosos, dada à sua capacidade de promover a síntese proteica e prevenir a fragilidade física.<sup>13</sup> Realizou-se um estudo, em ratinhos jovens e meia-idade, que foram submetidos a uma dieta rica em proteínas, tendo sido identificadas diferenças significativas entre o grupo com dieta normal e o grupo com uma dieta rica em proteínas, em ambas as idades.<sup>15</sup> A dieta rica em proteínas induziu, nos ratinhos jovens, um aumento no filo Firmicutes e uma redução de Bacteroides, enquanto, nos de meia-idade, teve o efeito oposto.<sup>15</sup> Estas diferenças explicar-se-ão por alterações na capacidade de digestão e absorção proteica, entre os dois grupos etários.<sup>15</sup> No entanto, a ingestão proteica não deverá ser extremamente elevada ( $>1,6$ g/kg peso corporal/dia), pois este consumo e, em particular, de proteína animal, está associado à indução de disbiose, à depleção de taxa bacterianas produtoras de SCFA e ao aumento da produção N-óxido de trimetilamina, um marcador de risco cardiovascular elevado.<sup>13</sup> Assim, os possíveis benefícios de dietas ricas em proteínas na saúde metabólica e muscular poderiam ser comprometidos pela estimulação da inflamação e aumento do risco cardiovascular, pelo menos em condições experimentais.<sup>13</sup>

Assim, numa perspetiva de envelhecimento saudável, o consumo proteico deve ser moderado, sustentado, particularmente, por proteínas de elevado valor biológico (caseína, proteínas do soro do leite) e estar associado a um consumo adequado de HC e fibras.<sup>13</sup>

Como referido, a ingestão de alimentos ricos em **fibras** promove um aumento da diversidade microbiana intestinal e das espécies produtoras de SCFA.<sup>13</sup> Pelo contrário, dietas pobres em fibras comprometem a produção de SCFA e, conseqüentemente a regulação das respostas imune e inflamatória.<sup>10</sup> Alguns tipos de fibras, como inulina, fruto-oligossacarídeos ou amido resistente, demonstraram ter um efeito prebiótico promovendo o crescimento de bifidobactérias.<sup>1</sup> As frutas e os vegetais, as principais fontes alimentares de fibras, contêm vitamina C e carotenoides, componentes conhecidos por apresentarem atividade anti-inflamatória, bem como grandes quantidades de **polifenóis** (composto bioativo), metabolizados pelas espécies bacterianas intestinais.<sup>1,13</sup> Estes polifenóis, apesar da biodisponibilidade muito reduzida, a MI metaboliza-os em metabolitos ativos e biodisponíveis.<sup>9</sup> Paralelamente, os polifenóis modulam a microbiota por exercerem um efeito prebiótico e promoverem o crescimento de espécies bacterianas.<sup>9</sup> O cacau, o chá, as uvas, o vinho, as bagas, as romãs e as nozes são alimentos ricos em polifenóis.<sup>9</sup> A MI é, provavelmente, responsável pelos efeitos

saudáveis dos polifenóis, ao regular a sua biodisponibilidade.<sup>9</sup> Um padrão alimentar rico em polifenóis também pode contribuir para a modulação do stress oxidativo e contrabalançar a disbiose da MI, mas, mais importante, melhorar a permeabilidade intestinal, que está estritamente associada à ativação crônica da resposta inflamatória.<sup>13</sup>

Assim, um consumo elevado de frutas e vegetais deve fazer parte de qualquer recomendação alimentar anti-envelhecimento<sup>13</sup>, dada a sua capacidade em reforçar a barreira intestinal, aumentar a motilidade intestinal, reduzir a inflamação e aumentar a produção de butirato<sup>1</sup>.

Os SCFA são responsáveis pela manutenção da integridade do epitélio cólico, homeostase da glicose, metabolismo lipídico e regulação do apetite.<sup>10</sup> Em particular, o butirato, uma vez absorvido para a circulação sistêmica, exerce uma vasta gama de funções metabólicas, incluindo, regulação anabólica, sensibilidade à insulina e modulação da inflamação.<sup>13</sup> A resistência anabólica, o stress oxidativo e a *inflammaging* estão profundamente envolvidos na definição da trajetória do envelhecimento, e uma síntese adequada de SCFA pela MI poderia contribuir para atenuar estas vias.<sup>13</sup>

De uma forma geral, a **dieta Mediterrânica** compreende todos estes princípios, nomeadamente, um consumo equilibrado de proteínas de alto teor biológico e uma ingestão aumentada de HC complexos, fibras e polifenóis.<sup>13</sup> Assim, a adesão a esta dieta está associada ao aumento da diversidade da MI, a um melhor equilíbrio entre simbioses e patobioses e a uma maior produção de SCFA.<sup>13</sup> Um estudo recente demonstrou que a adoção desta dieta durante um ano é capaz de alterar a MI dos indivíduos idosos, melhorando o seu estado de saúde e diminuindo a fragilidade.<sup>4</sup> A **ação anti-envelhecimento** da dieta Mediterrânica também é sustentada por outros nutrientes, incluindo ácidos gordos polinsaturados, vitaminas e minerais, e atua, globalmente, no sentido da redução da inflamação e do stress oxidativo e na melhoria da função imune, da estabilidade genómica e da sensibilidade à insulina.<sup>13</sup>

Além da modulação da inflamação e do anabolismo, os SCFA da dieta Mediterrânica também atuam ao nível da **função cognitiva**, uma vez que estão associados à diminuição da deposição de proteína amiloide na demência.<sup>13</sup>

Um dos fatores principais a influenciar o eixo intestino-cérebro é a dieta, logo, uma alteração dos hábitos alimentares secundária a um aumento do sofrimento psicológico, por exemplo, parece ser o *trigger* para as alterações da MI associadas à depressão e à ansiedade.<sup>28</sup> No entanto, é necessário esclarecer a relação entre a alimentação e estes dois distúrbios.<sup>28</sup> Além disso, a idade em si e as várias condições que desta advêm promovem o aumento do risco de défice nutricional e malnutrição, nos idosos.<sup>1,13</sup> A MI de indivíduos desnutridos está profundamente prejudicada, comprometendo vários mecanismos, nomeadamente, a resistência anabólica, a mal-absorção e a redução da síntese de vitaminas.<sup>13</sup> Assim, qualquer estratégia que previna a desnutrição e apoie um envelhecimento ativo saudável deve, cuidadosamente, ter em conta os efeitos na microbiota.<sup>13</sup>

Vários metabolitos da MI e bactérias probióticas ou fito-moléculas fermentadas pelo microbioma são conhecidos por exercerem propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes, o que pode ser benéfico na prevenção de ambientes pro-inflamatórios e pro-tumorogénicos associados à senescência. Vários

estudos demonstraram que a suplementação alimentar com bactérias probióticas pode influenciar os distúrbios inflamatórios através da modulação da senescência celular, nos tecidos do cólon. Por exemplo, a administração de *Lactobacillus pentosus* var. *plantarum* C29 em ratinhos envelhecidos inibiu a *inflammaging*, aumentou a expressão das *tight-junction proteins* do intestino e a diversidade bacteriana, o que se correlacionou com a supressão da senescência celular, no cólon dos ratinhos envelhecidos.<sup>5</sup>

Desta forma, o estabelecimento de **estratégias nutricionais** com o objetivo de contrabalançar as alterações específicas que ocorrem na microbiota durante o envelhecimento poderia contribuir para melhorar o estado de saúde dos idosos.<sup>1</sup>

As estratégias nutricionais relevantes para melhorar a função intestinal incluem o desenvolvimento de dietas adaptadas aos idosos bem como o uso de probióticos, pré-bióticos, simbióticos (o uso combinado de pre e probióticos), suplementos e compostos bioativos selecionados.<sup>1</sup>

Pensa-se que o uso de probióticos possa reduzir a inflamação crônica. Alguns estudos sugerem que os probióticos possam aumentar o crescimento bacteriano e restaurar a microecologia, normalizando a permeabilidade da mucosa. No entanto, ainda existem poucos estudos que comprovem a eficácia dos pre e dos probióticos, sendo uma área em expansão.<sup>15</sup>

Relativamente às dietas de **restrição calórica**, que prolongam a longevidade em vários modelos animais, estas alteram significativamente, a estrutura global da MI.<sup>9,15</sup> Este tipo de alimentação aumenta significativamente a população de filótipos benéficos, que estão positivamente correlacionados com o aumento da longevidade, e promove a redução de bactérias nocivas, como os agentes patogénicos, que afetam negativamente a longevidade.<sup>15</sup> A microbiota induzida pela restrição calórica, também, promove a redução dos níveis séricos de lipopolissacarídeos e da carga antigénica intestinal, promovendo um estado anti-inflamatório.<sup>15</sup> Um dos exemplos mais convincentes é a população da ilha *Okinawa*, onde o número de centenários ( $\geq 100$  anos) é o maior do mundo e a razão diagnóstica para esta grande longevidade é o baixo consumo calórico.<sup>9</sup> Os efeitos da restrição calórica não são apenas relacionados com o aumento da longevidade, mas, acima de tudo, com a melhoria do estado de saúde, a que se associa uma atenuação da neurodegeneração, da sarcopenia, das DCV e metabólicas e à diminuição da incidência de cancro.<sup>9</sup>

Como referido anteriormente, os indivíduos institucionalizados apresentam alterações prejudiciais a nível da MI devido à exposição ambiental a que estão sujeitos, incluindo dietas mais pobres e menos variadas. *Claesson M.J. et al.* compararam a microbiota de indivíduos de acordo com o local de residência (comunidade, frequência em hospital de dia ou numa residência de cuidados de longa duração) e com a dieta (quanto ao conteúdo em fibras e gorduras).<sup>15</sup> Os indivíduos institucionalizados numa residência de cuidados de longa duração (dietas com conteúdo elevado de gordura e com teor de fibras reduzido) apresentaram uma redução da diversidade da microbiota.<sup>15</sup> Assim, a dieta das residências de longa duração foi associada a um aumento das taxas de fragilidade e dos marcadores pro-inflamatórios.<sup>15</sup> Estima-se que entre 2%-16% dos idosos institucionalizados apresentem uma

ingestão proteica e calórica inadequada, o que pode aumentar o risco de malnutrição e exercer um impacto importante na MI.<sup>1</sup>

Com o envelhecimento, a manifestação de disgeusia e xerostomia (responsável pela dificuldade em deglutir), a deterioração da dentição, com conseqüente disfunção mastigatória, ou as alterações do olfato podem ter impacto no apetite de diversas maneiras e alterar a escolha alimentar, que, a longo prazo, podem levar a malnutrição, e também exerce um impacto negativo na MI, no SI e no estado cognitivo, verificando-se um aumento da suscetibilidade a doenças, nos idosos. Por exemplo, alimentos com baixa palatabilidade, como os vegetais e frutas, e difíceis de mastigar ou de digerir, como a carne, são, frequentemente, excluídos da dieta ou são reduzidos com a idade. A diminuição da disponibilidade de HC provenientes de alimentos que contêm fibras, a longo prazo, pode resultar numa redução da diversidade da microbiota e ao desenvolvimento de microbiomas não saudáveis.<sup>1</sup>

Assim, a manutenção de uma variedade alimentar elevada é essencial para um estado nutricional global ideal e para a obtenção de melhorias na saúde de idosos frágeis.<sup>1</sup>

Desta forma, a dieta pode ser uma maneira de modular a microbiota e, assim, evitar ou atrasar a manifestação das ARDs. E, portanto, de acordo com o conhecimento atual, a dieta Mediterrânica deve ser considerada o melhor padrão alimentar anti-envelhecimento.<sup>13</sup>

Contudo, a influência da dieta na composição e funcionalidade da microbiota dos idosos ainda não está totalmente esclarecida, pelo que seria interessante o desenvolvimento de estudos que incorporassem um número elevado de indivíduos, mas que também tivessem em conta diferentes localizações geográficas, visto que o perfil nutricional e as características da MI e do SI podem variar dependendo da localização geográfica e dos padrões sociais. Assim, seria possível alcançar conclusões robustas da eficácia das intervenções nutricionais ao nível da microbiota e, conseqüentemente, da saúde dos idosos, permitindo também o desenvolvimento intervenções adequadas às necessidades de determinados grupos de indivíduos.<sup>1</sup>

Relativamente aos efeitos da dieta nos restantes microbiomas, tal como se verificou no impacto da AF, é necessário aprofundar conhecimentos a fim de clarificar o impacto dessas alterações nas várias microbiotas, desencadeadas através da alimentação, nos inúmeros distúrbios associados à idade.

## 6. OS FÁRMACOS E O MICROBIOMA

Os fármacos têm um forte impacto na composição do microbioma, em particular, os **antibióticos**, que provocam uma perda considerável da diversidade e alterações da abundância da taxonomia microbiana, nomeadamente, um aumento de *taxa* bacterianas que de outra forma seriam raras.<sup>1,6</sup>

**Ciclos de antibioterapia** repetidos podem resultar na perda de espécies microbianas que podem nunca mais ser restituídas.<sup>28</sup> Além disso, a exposição aos antibióticos proporcionou a colonização dos organismos multirresistentes, constituindo um problema grave associado aos cuidados de saúde.<sup>6</sup>

Relativamente à **MI**, ao diminuírem a sua diversidade e riqueza, os antibióticos levam ao desenvolvimento de um ambiente imunodeficiente vulnerável que pode ser explorado tanto por agentes

patogénicos resistentes aos antibióticos como por bactérias oportunistas, frequentemente encontrados em ambiente hospitalar, mas também nos lares de idosos.<sup>6</sup> Os agentes patogénicos intestinais, resistentes aos antibióticos, mais clinicamente significativos são o *C.difficile* e o *Enterococcus faecium*, resistentes à vancomicina, juntamente com os bacilos *gram*-negativos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*.<sup>6</sup> De facto, a antibioterapia é um dos principais FR para ICD, sendo que antibióticos diferentes levam a modificações intestinais diferentes e, conseqüentemente, a diferentes suscetibilidades para ICD.<sup>1</sup> A título de exemplo, a antibioterapia comum contra a ICD, incluindo a vancomicina, o metronidazol e a fidaxomicina, demonstraram uma taxa de recorrência relativamente alta, no entanto, há resultados promissores com a nova terapêutica de **transplantação de microbiota fecal**, que alcança uma taxa de resposta de 83-94% em ICD recorrente.<sup>1</sup> Na generalidade, os resultados dos estudos de transplantação de microbiota fecal conduzidos em modelos animais apoiam a possibilidade de influenciar o processo de envelhecimento através da modulação da microbiota.<sup>13</sup> Além da transplantação fecal, também podem ser desenvolvidas novas estratégias terapêuticas com base no estudo realizado na abordagem do CCR através de *E.coli* geneticamente modificada, mencionado no capítulo do microbioma intestinal.

Relativamente ao tratamento das **ITRS**, o uso de antibióticos e de corticosteroides intranasais permite a combinação das propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias, no entanto, promovem uma perda da diversidade microbiana, promovendo o aumento de bactérias *gram*-negativas no nariz. Além disso, a abundância de comensais, como o *Dolosigranulum* e *Corynebacterium*, que normalmente são altamente abundantes no nariz humano e que são conhecidos por diminuir o risco de ITRS e por manterem a estabilidade da microbiota, são reduzidos pela antibioterapia. Estas alterações, ao nível das NA, prevalecem durante o tratamento e no período pós-antibioterapia, pelo menos, 2 semanas. Assim, as doenças das VA superiores devem ser prevenidas e tratadas através de terapêuticas menos agressivas como lavagens salinas, limpeza da mucosa nasal de mediadores inflamatórios e outros poluentes. Por exemplo, a ludgunina (peptídeo cíclico que contém tiazolidina), secretada pelo *S. lugdunensis*, é um agente potencialmente aplicável para uma terapêutica putativa, pois inibe o crescimento de *S. aureus in vitro*. Além disso, o *S. pneumoniae*, um indutor comum de doenças do TRS, pode ser inibido pela *C. accolens* através da produção de ácidos gordos livres a partir dos triacilgliceróis do hospedeiro, resultando num aumento da expressão da beta-defensina-2 humana antibacteriana. A lavagem nasal provém da *Aiurveda*, um sistema de saúde tradicional antigo desenvolvido na Índia. Atualmente, é usado não só no tratamento de doenças do TRS, mas também na prevenção das mesmas. É recomendada a utilização de água destilada, uma vez que a água da torneira ou de outras fontes podem levar a infeções micobacterianas e a abscessos cerebrais amebianos. De facto, a lavagem nasal é um método eficaz, barato e simples de tratar os distúrbios nasossinusais isoladamente ou em associação com outras terapêuticas de maneira a reduzir o consumo de fármacos.<sup>7</sup>

O uso de **inibidores da bomba de prótons** (IBPs), um fármaco muito comumente usado pelos idosos para aliviar o desconforto digestivo, foi associado a taxas elevadas de infeções por norovírus, o vírus

que, juntamente com o *C.difficile*, foram a causa da maioria das mortes por gastroenterites que ocorreram durante 1999-2007 (83%), na população idosa dos EUA.<sup>1</sup>

Contudo, existem **terapêuticas** que podem contribuir para uma modulação benéfica da microbiota e que, conseqüentemente, acarretam benefícios para a saúde do hospedeiro, nomeadamente os **senolíticos** e os **pre e probióticos**, apesar da eficácia destes últimos ainda não estar bem esclarecida. Como referido, a eliminação das células senescentes, cuja quantidade é superior nos idosos, melhora o funcionamento do organismo, com impacto na longevidade. Um estudo recente demonstrou que o consumo de uma combinação de senolíticos de Dasatinib (D) e Quercetin (Q) resulta numa diminuição da carga de células senescentes e do SASP no intestino delgado e no cólon, comparativamente aos ratinhos controlo.<sup>5</sup> A associação de D e Q modula populações microbianas específicas a nível intestinal, sugerindo que os senolíticos podem melhorar a saúde ao diminuírem a senescência intestinal, a inflamação e a disbiose da MI, em indivíduos idosos.<sup>5</sup> Contudo, as terapêuticas antisenescentes atuais apresentam perfis de segurança muito reduzidos, o que limita a sua utilização.<sup>30</sup>

Os **probióticos** são microrganismos vivos, que, quando administrados numa quantidade adequada, conferem benefícios para a saúde do hospedeiro.<sup>1</sup> A maioria dos probióticos são cadeias de diferentes espécies de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*<sup>1,25</sup>, que pertencem aos filos Actinobacteria e Firmicutes, respetivamente, fundamentais na homeostasia intestinal, desempenhando um papel importante na saúde gastrointestinal<sup>25</sup>, mas também global, dada a interligação entre os diferentes microbiomas do organismo. Assim, o seu uso como probióticos tem demonstrado efeitos benéficos numa variedade de condições patológicas. Os probióticos atuam por inibição dos agentes patogénicos entéricos ou captura das suas toxinas, interagindo com alguns membros da MI através de mecanismos de alimentação cruzada na presença de substratos prebióticos e modulando diretamente o SI ou através da sua interação com os membros da MI.<sup>1</sup> Assim, os probióticos podem interagir com outros microrganismos do microbioma humano através da produção de antimicrobianos, da colonização competitiva e da inibição do crescimento de agentes patogénicos (ex.: alteração do pH local).<sup>7</sup>

Os **prebióticos** são ingredientes seletivamente fermentados que promovem alterações específicas na composição e/ou na atividade da microbiota gastrointestinal, conferindo, assim, benefícios na saúde do hospedeiro. A maioria dos prebióticos são HC complexos ou oligossacarídeos de frutas, grãos integrais e outros vegetais ou são produzidos industrialmente. Os prebióticos não são digeríveis no intestino delgado e atingem o cólon sem serem absorvidos, onde são seletivamente fermentados por alguns membros da MI, resultando em alterações benéficas na composição da microbiota e, conseqüentemente, na sua atividade metabólica.<sup>1</sup>

Assim, o desenvolvimento de novas intervenções baseadas em prebióticos, probióticos e senolíticos (otimizando os perfis de segurança destes fármacos) poderá ser a chave da diminuição dos distúrbios associados ao envelhecimento e, conseqüentemente, do aumento da longevidade associada a uma boa QoL.

## 7. CONCLUSÃO

A maioria da informação e conhecimento descritos sobre o microbioma humano nos estudos abordados nesta revisão, só foi possível com os avanços da tecnologia, nomeadamente, o desenvolvimento das técnicas de NGS de DNA e baseadas na ómica. A análise da evolução do microbioma ao longo do envelhecimento permitiu concluir que este desempenha múltiplas funções no organismo do hospedeiro, essenciais ao seu normal funcionamento e que alterações ao nível da microbiota poderiam estar na origem de várias doenças, em particular, aquelas que surgem, frequentemente, associadas à idade.

Ao longo das últimas décadas tem-se verificado um aumento da esperança média de vida, cuja tendência indica que continuará a aumentar, e com isto prende-se a necessidade de melhorar a QoL daqueles que vivem mais. Com o envelhecimento, verifica-se um declínio do SI, um desequilíbrio entre a atividade anti e pro-inflamatória, promovendo a *inflammaging*, que, conseqüentemente, está associada a uma maior fragilidade e com a manifestação de várias ARDs. Atualmente, estas alterações são associadas à microbiota, uma vez que com o envelhecimento ocorre, por exemplo, uma diminuição da diversidade microbiana, incluindo de espécies benéficas com propriedades anti-inflamatórias, nomeadamente, espécies produtoras de butirato, como a *Faecalibacterium prausnitzii*. Além disso, existe evidência que correlaciona certos padrões disbióticos a determinadas patologias.

Mais recentemente, alguns estudos comprovaram a possibilidade de modular a microbiota através de várias estratégias, o que, atualmente, é o grande foco das terapêuticas anti-envelhecimento, cujo objetivo é promover um envelhecimento saudável, ativo e com menores taxas de fragilidade e incapacidade. Visto que o microbioma está sujeito a várias modificações desde muito cedo, estas medidas podem ter de ser instituídas atempadamente e mesmo em idades bem mais precoces. Atualmente, está em estudo o uso de pré e probióticos, de transplantação fecal e de terapêuticas antissenescentes, com estes intuitos. Relativamente, aos primeiros, alguns estudos têm demonstrado efeitos benéficos na modulação do microbioma, contudo, a sua eficácia ainda não está totalmente comprovada. A transplantação fecal tem sido a que tem apresentado resultados mais promissores com a capacidade de restaurar a microbiota de organismos envelhecidos através de dadores jovens. Quanto às terapêuticas antissenescentes, apesar do seu princípio parecer constituir uma medida eficaz, nomeadamente, a eliminação de células senescentes, os seus perfis de segurança limitam a sua utilização.

Adicionalmente, verificou-se que o próprio estilo de vida, a dieta, a AF e os fármacos a que o indivíduo é exposto ao longo de toda a sua vida, também têm impacto na composição da microbiota, sendo que vários estudos demonstraram que alterações a este nível podem ser eficazes na restauração ou, pelo menos, na manutenção de uma microbiota saudável, associada a bons *outcomes* em saúde. Os resultados mais recentes indicam que a adoção de uma dieta equilibrada (ex.: dieta Mediterrânea) associada a um estilo de vida saudável e ativo podem ser a chave para a prevenção da disbiose e, conseqüentemente, de patologias, promovendo uma melhor QoL, atingindo, assim, o objetivo final de um envelhecimento ativo e saudável.

Todavia, são necessários mais estudos e conhecimentos mais aprofundados e de relação entre as ARDs e a composição dos microbiomas, para que se possam universalizar estas teorias e, preferencialmente, em amostras de grandes dimensões, tendo em conta, também, outros fatores ambientais que possam ter impacto ao nível do microbioma, nomeadamente, a localização geográfica, meio rural ou urbano, a institucionalização e todos os outros referidos anteriormente.

O conhecimento do **desequilíbrio no microbioma**, nova área de investigação e em forte expansão, tem ganho terreno e importância, tendo sido inclusive considerada recentemente, num simpósio de investigação sobre “New Hallmarks of Ageing”<sup>31</sup>, como um novo marco do envelhecimento., potenciando estudos futuros nesta temática.

## BIBLIOGRAFIA

1. Salazar N, González S, Nogacka AM, Rios-Covián D, Arboleya S, Gueimonde M, et al. Microbiome: Effects of Ageing and Diet. *Curr Issues Mol Biol.* 2020;36:33–62. Available from: <https://www.caister.com/cimb/abstracts/v36/33.html>
2. Knight R, Callewaert C, Marotz C, Hyde ER, Debelius JW, McDonald D, et al. The Microbiome and Human Biology. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2017 Aug 31;18(1):65–86. Available from: <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-genom-083115-022438>
3. Davenport ER, Sanders JG, Song SJ, Amato KR, Clark AG, Knight R. The human microbiome in evolution. *BMC Biol.* 2017 Dec 27;15(1):127. Available from: <https://bmcbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12915-017-0454-7>
4. Santoro A, Zhao J, Wu L, Carru C, Biagi E, Franceschi C. Microbiomes other than the gut: inflammaging and age-related diseases. *Semin Immunopathol.* 2020 Oct 30;42(5):589–605. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s00281-020-00814-z>
5. Sharma R. Emerging Interrelationship Between the Gut Microbiome and Cellular Senescence in the Context of Aging and Disease: Perspectives and Therapeutic Opportunities. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2022 Aug 5;14(4):648–63. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12602-021-09903-3>
6. Haran JP, McCormick BA. Aging, Frailty, and the Microbiome—How Dysbiosis Influences Human Aging and Disease. *Gastroenterology.* 2021 Jan;160(2):507–23. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508520355347>
7. Kumpitsch C, Koskinen K, Schöpf V, Moissl-Eichinger C. The microbiome of the upper respiratory tract in health and disease. *BMC Biol.* 2019 Dec 7;17(1):87. Available from: <https://bmcbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12915-019-0703-z>
8. Badal VD, Vaccariello ED, Murray ER, Yu KE, Knight R, Jeste D V., et al. The Gut Microbiome, Aging, and Longevity: A Systematic Review. *Nutrients.* 2020 Dec 7;12(12):3759. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/12/3759>
9. Gadecka A, Bielak-Zmijewska A. Slowing Down Ageing: The Role of Nutrients and Microbiota in Modulation of the Epigenome. *Nutrients.* 2019 Jun 1;11(6):1251. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/6/1251>
10. Castro-Mejía JL, Khakimov B, Krych Ł, Bülow J, Bechshøft RL, Højfeldt G, et al. Physical fitness in community-dwelling older adults is linked to dietary intake, gut microbiota, and metabolomic signatures. *Aging Cell.* 2020 Mar 22;19(3):1–13. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ace1.13105>
11. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The Hallmarks of Aging. *Cell.* 2013 Jun;153(6):1194–217. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3836174/pdf/emss-55354.pdf>
12. Aleman FDD, Valenzano DR. Microbiome evolution during host aging. Leong JM, editor. *PLOS Pathog.* 2019 Jul 25;15(7):e1007727. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal>

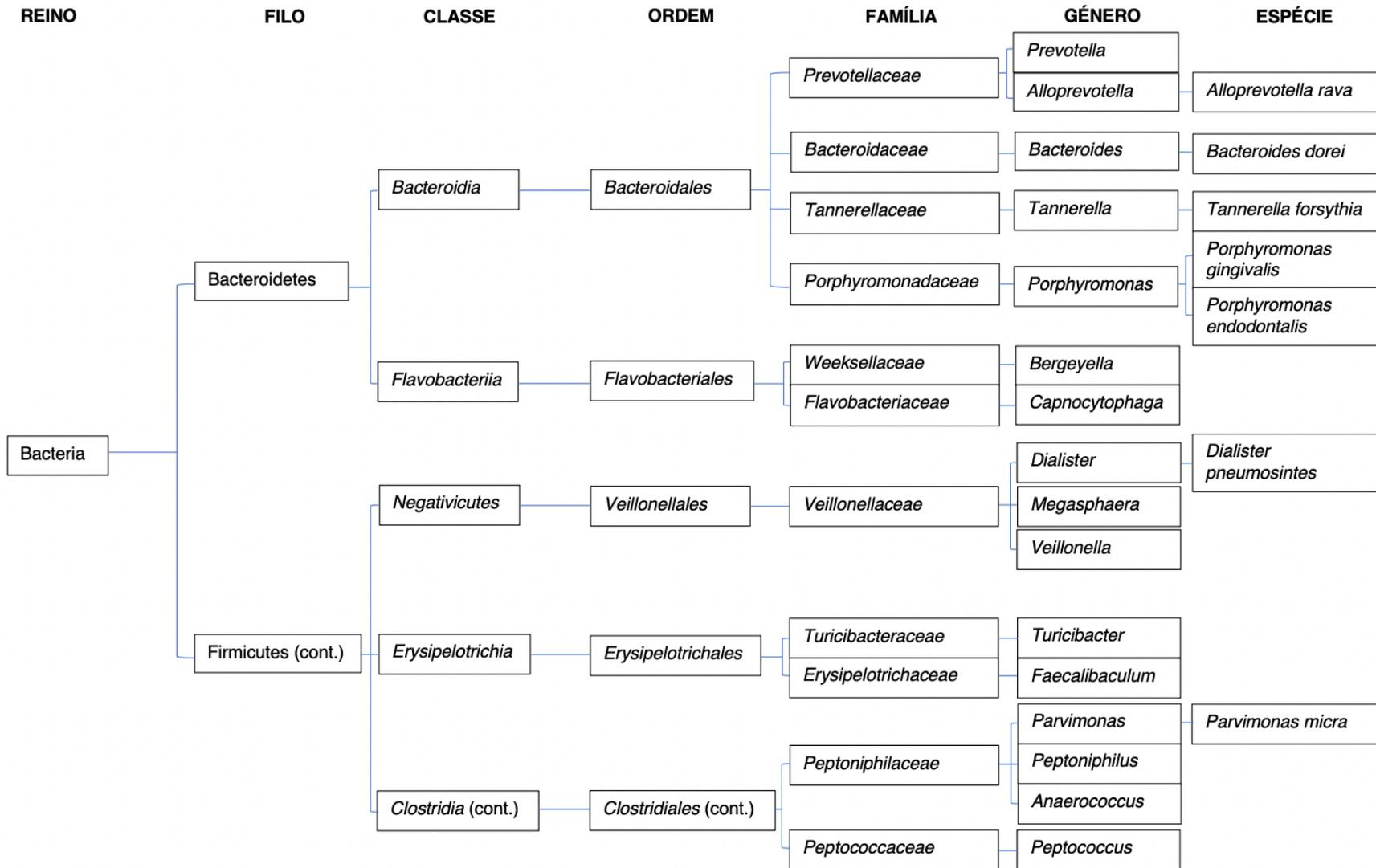
- .ppat.1007727
13. Strasser B, Wolters M, Weyh C, Krüger K, Ticinesi A. The Effects of Lifestyle and Diet on Gut Microbiota Composition, Inflammation and Muscle Performance in Our Aging Society. *Nutrients*. 2021 Jun 15;13(6):2045. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/6/2045>
  14. Liu S, Wang Y, Zhao L, Sun X, Feng Q. Microbiome succession with increasing age in three oral sites. *Aging (Albany NY)*. 2020 May 7;12(9):7874–907. Available from: <https://www.aging-us.com/lookup/doi/10.18632/aging.103108>
  15. García-Peña C, Álvarez-Cisneros T, Quiroz-Baez R, Friedland RP. Microbiota and Aging. A Review and Commentary. *Arch Med Res*. 2017 Nov;48(8):681–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0188440917302345>
  16. Luna PC. Skin Microbiome as Years Go By. *Am J Clin Dermatol*. 2020 Sep 10;21(Suppl 1):12–7. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40257-020-00549-5>
  17. Raghunath RS, Venables ZC, Millington GWM. The menstrual cycle and the skin. *Clin Exp Dermatol*. 2015 Mar;40(2):111–5. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ced.12588>
  18. Barrera-Vázquez OS, Gomez-Verjan JC. The Unexplored World of Human Virome, Mycobiome, and Archaeome in Aging. Anderson R, editor. *Journals Gerontol Ser A*. 2020 Sep 25;75(10):1834–7. Available from: <https://academic.oup.com/biomedgerontology/article/75/10/1834/5652062>
  19. Koskinen K, Reichert JL, Hoier S, Schachenreiter J, Duller S, Moissl-Eichinger C, et al. The nasal microbiome mirrors and potentially shapes olfactory function. *Sci Rep*. 2018 Dec 22;8(1):1296. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41598-018-19438-3>
  20. Dickson RP, Erb-Downward JR, Huffnagle GB. The role of the bacterial microbiome in lung disease. *Expert Rev Respir Med*. 2013 Jun 9;7(3):245–57. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/ers.13.24>
  21. Boyton RJ, Reynolds CJ, Quigley KJ, Altmann DM. Immune mechanisms and the impact of the disrupted lung microbiome in chronic bacterial lung infection and bronchiectasis. *Clin Exp Immunol*. 2013 Jan 3;171(2):117–23. Available from: <https://academic.oup.com/cei/article/171/2/117/6420928>
  22. Whiteside SA, Razvi H, Dave S, Reid G, Burton JP. The microbiome of the urinary tract—a role beyond infection. *Nat Rev Urol*. 2015 Feb 20;12(2):81–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrurol.2014.361>
  23. Adebayo AS, Ackermann G, Bowyer RCE, Wells PM, Humphreys G, Knight R, et al. The Urinary Tract Microbiome in Older Women Exhibits Host Genetic and Environmental Influences. *Cell Host Microbe*. 2020 Aug;28(2):298-305.e3. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1931312820303632>
  24. Gliniewicz K, Schneider GM, Ridenhour BJ, Williams CJ, Song Y, Farage MA, et al. Comparison of the Vaginal Microbiomes of Premenopausal and Postmenopausal Women. *Front Microbiol*. 2019 Feb 14;10(FEB):1–9. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/>

fmicb.2019.00193/full

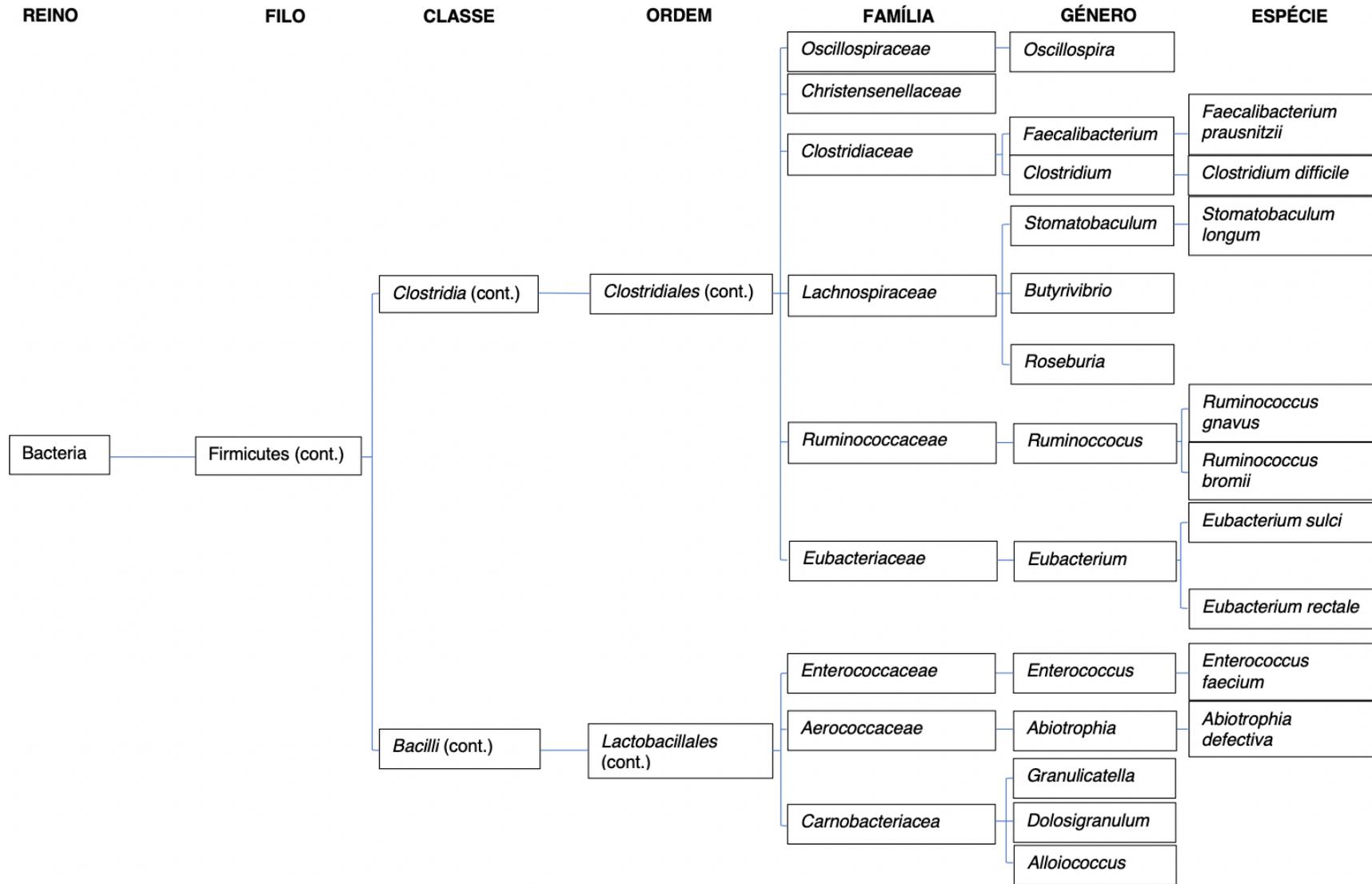
25. Zhu Q, Jiang S, Du G. Effects of exercise frequency on the gut microbiota in elderly individuals. *Microbiologyopen*. 2020 Aug;9(8):1–15. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mbo3.1053>
26. Morita, Yokoyama, Imai, Takeda, Ota, Kawai, et al. Aerobic Exercise Training with Brisk Walking Increases Intestinal Bacteroides in Healthy Elderly Women. *Nutrients*. 2019 Apr 17;11(4):868. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/4/868>
27. Taniguchi H, Tanisawa K, Sun X, Kubo T, Hoshino Y, Hosokawa M, et al. Effects of short-term endurance exercise on gut microbiota in elderly men. *Physiol Rep*. 2018 Dec 8;6(23):e13935. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.14814/phy2.13935>
28. Fart F, Rajan SK, Wall R, Rangel I, Ganda-Mall JP, Tingö L, et al. Differences in Gut Microbiome Composition between Senior Orienteering Athletes and Community-Dwelling Older Adults. *Nutrients*. 2020 Aug 27;12(9):2610. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/9/2610>
29. World Obesity Day 2022 – Accelerating action to stop obesity. 2022 [cited 2023 Jan 26]. Available from: <https://www.who.int/news/item/04-03-2022-world-obesity-day-2022-accelerating-action-to-stop-obesity>
30. Boyajian JL, Ghebretatios M, Schaly S, Islam P, Prakash S. Microbiome and Human Aging: Probiotic and Prebiotic Potentials in Longevity, Skin Health and Cellular Senescence. *Nutrients*. 2021 Dec 18;13(12):4550. Available from: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/12/4550>
31. Schmauck-Medina T, Molière A, Lautrup S, Zhang J, Chlopicki S, Madsen HB, et al. New hallmarks of ageing: a 2022 Copenhagen ageing meeting summary. *Aging (Albany NY)*. 2022 Aug 31;14(16):6829–39. Available from: <https://www.aging-us.com/lookup/doi/10.18632/aging.204248>
32. Associação Portuguesa de Nutrição. Equivalentes Metabólicos (MET). [cited 2023 Mar 6]. Available from: <https://www.apn.org.pt/glossario.php?letra=E>
33. BacDive - The Bacterial Diversity Metadatabase. [cited 2023 Jan 30]. Available from: <https://bacdive.dsmz.de>
34. ITIS - Integrated Taxonomic Information System. [cited 2023 Jan 30]. Available from: <https://www.itis.gov>
35. NCBI - National Center for Biotechnology. [cited 2023 Jan 30]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy>

# **ANEXO**

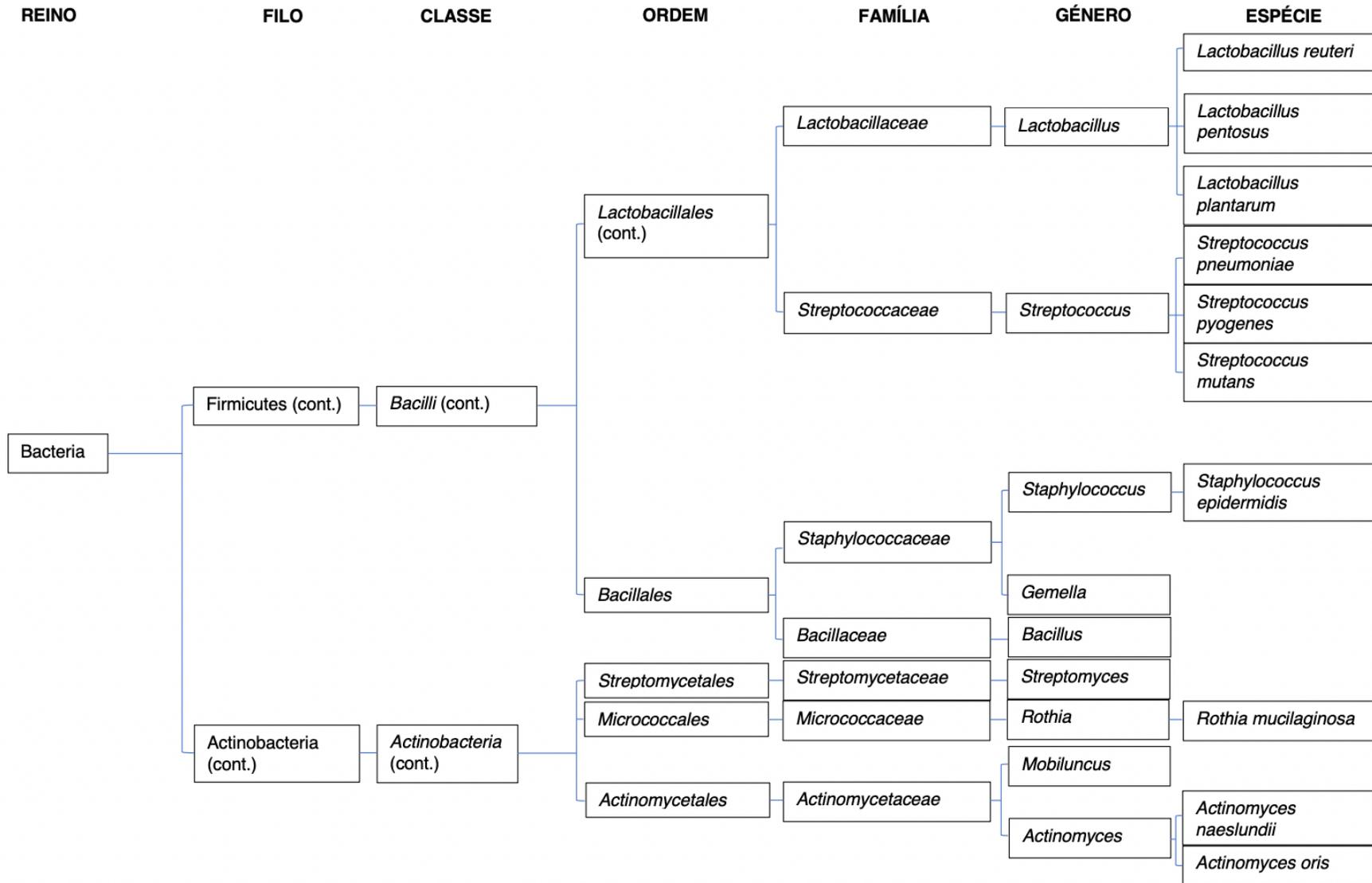
**ANEXO I – CLASSIFICAÇÃO TAXONÓMICA DOS MICRORGANISMOS**



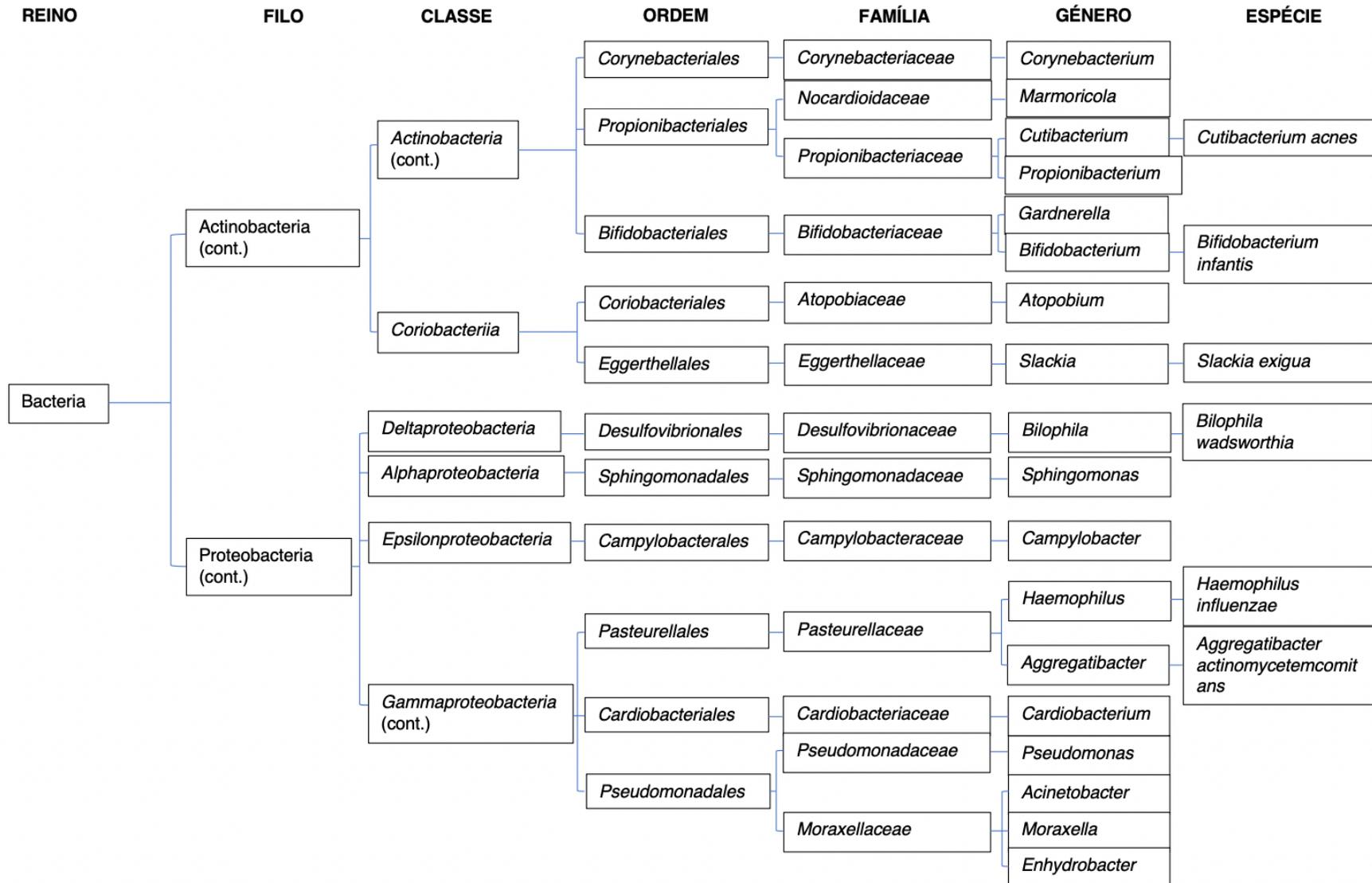
**ANEXO I – CLASSIFICAÇÃO TAXONÓMICA DOS MICRORGANISMOS (cont.)**



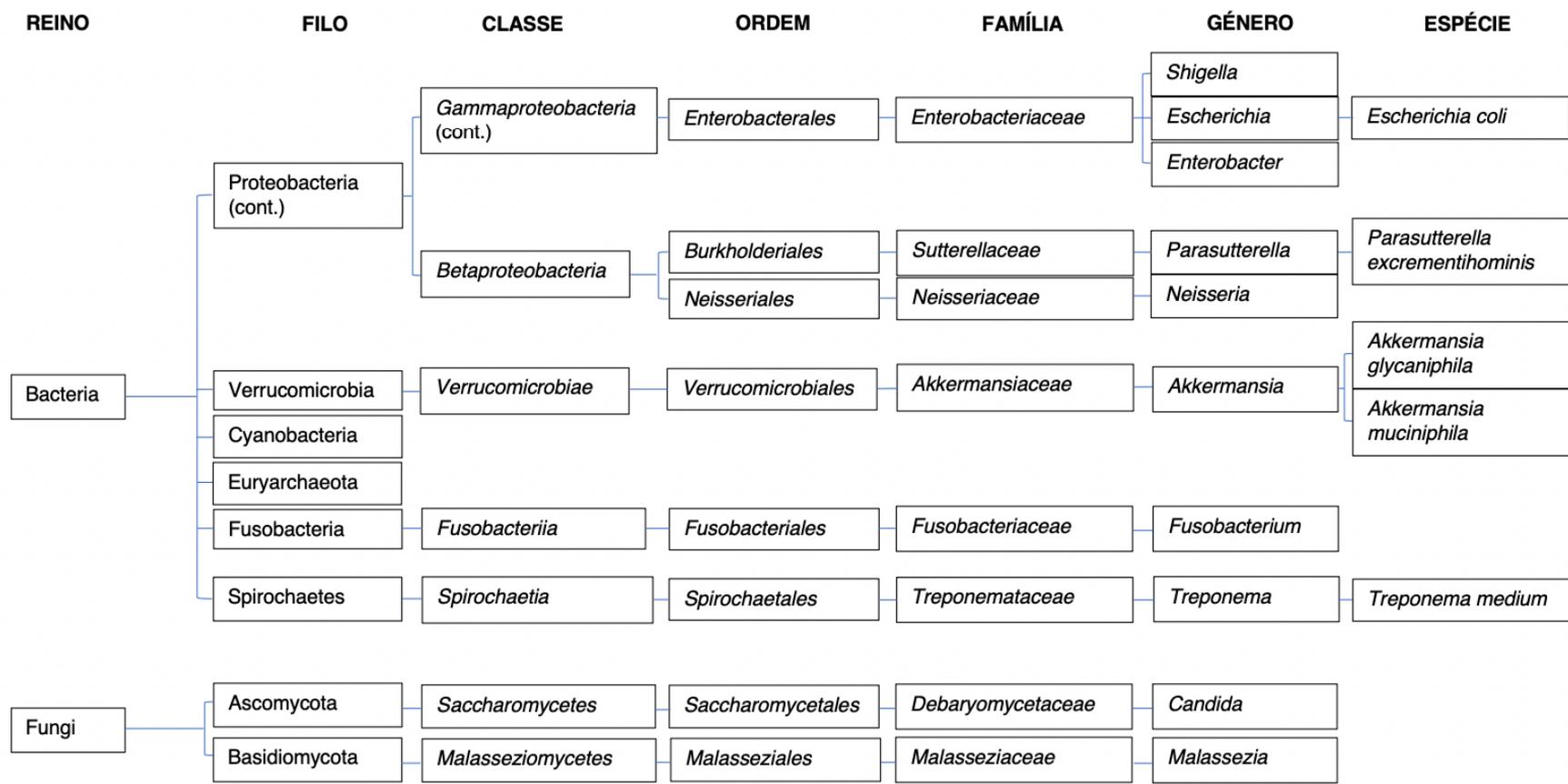
**ANEXO I – CLASSIFICAÇÃO TAXONÓMICA DOS MICRORGANISMOS (cont.)**



**ANEXO I – CLASSIFICAÇÃO TAXONÓMICA DOS MICRORGANISMOS (cont.)**



**ANEXO I – CLASSIFICAÇÃO TAXONÓMICA DOS MICROORGANISMOS (cont.)**



Adaptado de: BacDive – The Bacterial Diversity Metadatabase<sup>33</sup>; ITIS - Integrated Taxonomic Information System<sup>34</sup>; NCBI - National Center for Biotechnology Information<sup>35</sup>.