

REUNIÃO MONOTEMÁTICA PAPEL DA MICROBIOTA DO USO DE PREBIÓTICOS, SIMBIÓTICOS E PROBIÓTICOS NAS DOENÇAS DO FÍGADO E TRATO DIGESTIVO

Sociedade Brasileira de Hepatologia (SBH), Núcleo Brasileiro para Estudos do H. Pylori e Microbiota (NBHPM), Federação Brasileira de Gastroenterologia (FBG)

INTRODUÇÃO

Cada vez mais temos evidências da participação de microrganismos na manutenção de nossa saúde e de sua relação com várias afecções, intestinais e extra-intestinais. Os sistemas expostos ao meio ambiente apresentam-se colonizados por bactérias, fungos, arqueias, vírus e inclusive protozoários. A quantidade destes seres microscópicos presentes nos sistemas respiratórios, genitourinário, pele e principalmente tubo digestivo pode ser estimada em quase 1,5 Kg.¹

Existem boas evidências de que a colonização de nosso intestino, pode acontecer ainda dentro do útero materno, mesmo sem haver qualquer evidência de ruptura da barreira amniótica. O contato de fato com o meio ambiente acontece durante o nascimento, onde de fato a colonização do recém nascido acontece. O parto normal e a termo são condições que provavelmente garantem a constituição do que chamamos de microbiota saudável. Crianças nascidas de parto normal serão inicialmente colonizadas por bactérias do períneo da mãe, enquanto que no parto cesariano, serão as bactérias do hospital e da pele do abdome materno os primeiros a serem recebidos pela criança, sendo inclusive, o trabalho de parto em si, considerado de suma

importância, para que esta colonização inicial seja feita de modo considerado saudável. Crianças nascidas de parto cesárea, principalmente partos agendados sem rotura da bolsa amniótica e sem trabalho de parto, tendem a ter chance maior de desenvolver doenças alérgicas, autoimunes, degenerativas, metabólicas, tanto intestinais como extra intestinais, incluindo obesidade e doenças cognitivas como por exemplo o autismo e a depressão.¹⁻⁴

A amamentação natural é outra variável essencial para o desenvolvimento de microbiota adequada. Embora se empreguem cada vez mais, fórmulas lácteas que mimetizem o melhor possível o leite materno, não é ainda possível sua substituição adequada por nenhum produto disponível no mercado. O leite natural apresenta em sua composição lactobacilos e carboidratos conhecidos como “human milk oligosaccharides” (HMO). Cada mãe apresenta um tipo de leite, com diferentes lactobacilos e quantidades e tipos variáveis destes HMO. Os HMO funcionam como prebióticos, estimulando o crescimento e desenvolvimento de bactérias benéficas. Eles ligam-se a receptores da mucosa intestinal que poderiam ser ocupados por bactérias patogênicas, dificultando por exemplo o aparecimento de infecções; apresentam efeito imunomodulador importante, controlando o desenvolvimento de nosso sistema imune; modificam proliferação e diferenciação de células intestinais e participam inclusive da formação de nosso sistema nervoso central. Existem evidências convincentes de que o aleitamento materno e o parto normal apresentam efeito protetor contra infecções virais e bacterianas e previnem o desenvolvimento de doenças alérgicas e autoimunes.^{2, 5-8}

O desenvolvimento da criança faz com que ela comece a ingerir diferentes tipos de alimento, desenvolva infecções, fatores primordiais para o incremento

de suas bactérias, fungos, vírus, e mais do que isso, representam mecanismos para uma maior diversidade bacteriana, essencial para uma microbiota saudável. Os 1.000 primeiros dias de vida são considerados os mais importantes na formação do cerne de nossa microbiota. Qualquer interferência neste triênio inicial, pode trazer impacto para o resto de nossas vidas. Logo, infecções que desenvolvemos, uso de medicamentos que interfiram na imunidade, secreção ácido-péptica e motilidade intestinal, especialmente antibióticos, aleitamento e tipos de alimentos podem fazer com que a microbiota formada não seja a ideal.⁹⁻¹¹

É importante também mencionarmos, que não somente as bactérias são importantes neste processo. A participação do viroma, o fungoma, protozoários e até helmintos tem sido estudada. Não existe ninguém com a mesma microbiota, de tal modo que hoje podemos considerar este conjunto de microrganismos como uma verdadeira impressão digital de cada um de nós. Existe ainda clara diferença entre populações de diferentes origens, mesmo dentro de um mesmo país, mais ainda quando consideramos culturas diferentes, de diversas regiões.^{1, 12-15}

A microbiota exerce seu efeito de inúmeras maneiras, de forma direta e indireta. Exerce ação protetora, traduzida pela capacidade das bactérias “boas” em nos proteger de infecções por microrganismos patogênicos. Isto é conseguido deslocando-se patógenos (dois corpos não podem ocupar o mesmo lugar no espaço ao mesmo tempo), competindo por nutrientes, competindo por receptores e ainda produzindo fatores que possam interferir na sobrevivência de cepas patobiontes, por exemplo secretando bacteriocinas (antibióticos naturais) e outras colicinas, gerando AGCC (butirato, propionato,

lactato, acetato, etc) a partir de fermentação de carboidratos não digeríveis, que reduzem o pH colônico dificultando a proliferação bacteriana.¹⁶⁻²⁰

A função metabólica é exercida através da promoção da diferenciação de células epiteliais intestinais, metabolização de eventuais carcinógenos presentes na dieta, síntese ou facilitação da absorção de vitaminas e de outros nutrientes e oligoelementos.¹⁶

A microbiota pode ainda promover a digestão de vários alimentos como a lactose. Bactérias do gênero *Lactobacillus*, podem produzir beta-galactosidase e assim facilitar a quebra de lactose, diminuindo sintomas de intolerância a este dissacarídeo.²¹ Uma das funções mais importantes dos microrganismos consiste em seu efeito imunomodulador esmiuçado mais adiante nesta publicação. Talvez o mecanismo de ação mais impressionante e mais importante seja a modulação do chamado eixo cérebro-intestino.

Uma vez com saúde, vivemos em um regime conhecido como eubiose, onde existe equilíbrio entre bactérias boas, ruins e o sistema imunológico da mucosa intestinal. Células específicas da mucosa intestinal, conhecidas como células de Panneth, têm importância crucial na manutenção da saúde. Elas possuem estruturas conhecidas como “pattern recognition receptors” (PRR) como os receptores “toll-like” (TLR), que são capazes de identificar todos os antígenos presentes na luz intestinal, agrupados sob o nome de “microorganism-associated molecular patterns” (MAMPs). Uma vez em eubiose, antígenos “bons” são reconhecidos, havendo resposta saudável da mucosa intestinal, mantendo sua produção de IgA, muco, defensinas e mantendo funcionantes os “tight junctions” intestinais garantindo assim permeabilidade intestinal intacta.²² Havendo predomínio de bactérias patobiontes, ou quando há perda

da diversidade bacteriana ou de sua estabilidade, entramos em um processo conhecido como disbiose. Estado este também reconhecido por PRR intestinais que agora fazem com que a mucosa intestinal comece a agir de forma não saudável, diminuindo produção de muco, IgA, defensinas e fazendo com que os “tight junctions” deixem de funcionar de maneira adequada. Isto faz com que haja aumento da permeabilidade intestinal, promovendo a passagem de antígenos bacterianos e alimentares, produtos bacterianos e de outros microrganismos, para camadas mais profundas das mucosa intestinal. Como consequência células do sistema imune são atraídas para este local (mastócitos por exemplo), ocorrendo liberação de várias citocinas pró-inflamatórias, as quais por sua vez, atraem mais células inflamatórias para este local, fazendo com que uma cascata inflamatória tenha início.²² Este estado é “percebido” por fibras nervosas aferentes, que por sua vez transmitem esta informação para nosso sistema nervoso central, que vai agora filtrar e modular estes dados, mandando resposta eferente, diretamente por via nervosa (normalmente o nervo vago é o mais importante), além de alterar concomitantemente o eixo hipotálamo, hipófise adrenal. Ocorre assim modificação motora, secretória e de sensibilidade intestinais, além de alterações sistêmicas metabólicas e bioquímicas, capazes de modificar toda fisiologia de nosso organismo.^{9, 23-25}

Estas mesmas citocinas produzidas na submucosa do intestino, podem ganhar os vasos sanguíneos, alcançando a barreira hematoencefálica, modulando ação do sistema nervoso central, alterando por exemplo expressão de vários receptores como por exemplo os serotoninérgicos, promovendo sintomas sistêmicos como depressão, fadiga crônica, perda ou aumento do apetite.^{26, 27}

Algumas bactérias podem produzir neurotransmissores, aminoácidos e hormônios, que uma vez absorvidos, são transportados pelo sistema circulatório alterando as mais variadas funções de nosso corpo. A microbiota ainda é capaz de modular expressão de vários receptores intestinais e extra intestinais, promovendo modificações nos mais variados sistemas.^{27, 28}

O nosso intestino também apresenta número grande de células neuroendócrinas, algumas em íntimo contato com a luz intestinal e que tem entre outras funções, liberar grande variedade de neurotransmissores, que podem alterar diretamente o eixo cérebro intestino. Mais de 30 hormônios já foram descritos no intestino, praticamente 95% de toda nossa serotonina também é encontrada neste local.²⁹⁻³¹ Todo este processo pode ser modificado por vários fatores promovendo diferentes consequências, inclusive o próprio envelhecimento.^{32,33}

A modificação da microbiota pode ser feita por vários mecanismos, podendo-se corrigir ou provocar disbiose. A maneira mais comum de se fazer isto é modificando a dieta. Importantes componentes dietéticos capazes de promover mudança são as fibras. Elas podem ser definidas como carboidratos não digeríveis e portanto incapazes de serem absorvidos, podendo ser solúveis e insolúveis. As primeiras representam fonte importante de nutrientes para as bactérias intestinais. Quando são capazes de promover o crescimento das chamadas bactérias “boas”, podem ser chamadas de prebióticos. Para cada bactéria existe um prebiótico ideal, podendo-se calcular o chamado “índice prebiótico”, para cada tipo de bactéria. A associação de bactéria com a fibra errada, pode fazer com que outras bactérias não desejadas se desenvolvam mais, normalmente um fenômeno não desejado.

Os prebióticos uma vez fermentados por bactérias intestinais, geram produção dos chamados AGCC (AGCC) como o propionato, acetato, lactato e principalmente o butirato. Este último representa a principal fonte para manutenção da trofia dos colonócitos, favorece absorção de água e eletrólitos, coordena motilidade intestinal, melhora o “compliance” retal, acelera reparação dos enterócitos, promove diferenciação intestinal, apresenta efeito anti-inflamatório e restabelece a permeabilidade intestinal.^{19, 34-36}

Os AGCC são absorvidos e uma vez na circulação podem modular a barreira hematoencefálica e interferir de maneira positiva na chegada de substâncias quimicamente ativas ao SNC. Os AGCC se ligam a receptores específicos da mucosa intestinal (“free fat acid receptors”) e assim podem interferir diretamente no eixo cérebro intestinal e junto com acoplamento aos TLR intestinais, podem controlar vários fatores relacionados com nosso metabolismo de uma maneira geral. São robustas as evidências que mostram alterações na liberação grelina, leptina, PYY, GLP-1, GLP-2, etc. Têm também efeito redutor da aderência de cepas patobiontes ao nosso intestino e estimulador da atividade de células NK e da atividade fagocítica (dificultando infecções bacterianas). Eles modulam resposta imunológica via ação de TLR das células dendríticas; são capazes de reduzir inflamação, promovendo secreção de citocinas anti-inflamatórias como a IL-10 e reduzindo as inflamatórias como a IL-1beta e a IL-6. Por fim são descritos inclusive efeitos anti-mitóticos.^{9, 27, 37, 38}

A fermentação bacteriana faz com que ocorra também produção de gases, os quais por si só podem resultar em distensão e desconforto, ao mesmo tempo

que são capazes de interferir na motilidade intestinal. Por exemplo, o metano está diretamente relacionado com quadros de constipação intestinal.³⁹

Bactérias ingeridas pela alimentação podem trocar material genético com nossas bactérias intestinais e assim modificar suas funções (fenômeno conhecido como “horizontal or lateral gene transfer.”⁴⁰ Mudança na alimentação pode modificar rapidamente a microbiota, podendo, esta modificação ser benéfica ou não.⁴¹

Segundo modo de alterarmos nossa microbiota é através da atividade física. A prática regular de exercícios além de melhorar humor e prevenir declínio cognitivo, modifica imunidade da mucosa e interfere diretamente com a microbiota intestinal, aumentando sua diversidade, diminuindo cepas patobiontes, produzindo agentes antioxidantes e também incrementando a produção de AGCC.⁴²⁻⁴⁴

O transplante fecal modifica claramente a microbiota, tendo seu uso na prática clínica restrito ao tratamento de colites secundárias ao *Clostridioides difficile* que não responderam a terapia com metronidazol e vancomicina. Protocolos em andamento tentam estudar este método de manipulação da microbiota para tratamento também de doenças inflamatórias intestinais, doenças funcionais, cirrose, depressão, obesidade, doenças autoimunes. É muito importante que se diga que o uso do transplante fecal engloba a introdução no intestino do hospedeiro, não somente de bactérias mas de todos os componentes fecais, podendo incluir microrganismos e variada quantidade de proteínas, citocinas, carboidratos, etc. Estes fatores fazem com que o quesito segurança do transplante de fezes seja analisado com extremo cuidado.⁴⁵

Qualquer medicamento que interfira na motilidade e secreção intestinais, imunidade, secreção ácido-péptica, pode também modificar a microbiota. Fármacos como inibidores da bomba de prótons (IBP), antidepressivos, quimioterápicos, diuréticos são exemplos conhecidos. Entretanto, são os antibióticos sem dúvida os que causam maior impacto como exemplos clássicos de promotores de disbiose. Os antimicrobianos podem todavia, serem utilizados para manipulação da microbiota de maneira positiva, como é o caso das infecções intestinais e extra intestinais ou por exemplo na síndrome do supercrescimento bacteriano de intestino delgado. O uso destes medicamentos de forma indiscriminada, especialmente durante a formação da microbiota, ou seja, nos 1.000 primeiros dias pode trazer impacto para o resto de nossas vidas, por exemplo promovendo maior predisposição para obesidade ou magreza excessiva, doenças alérgicas e autoimunes.⁴⁶⁻⁴⁸

Por fim outra maneira de manipularmos o conjunto de microrganismos intestinais é a suplementação com probióticos (“organismos vivos que quando consumidos em quantidades adequadas, fazem bem para a saúde do hospedeiro”). Os probióticos podem ser bactérias ou fungos e devem portanto, estarem vivos e em número adequado, no seu local de ação, a luz intestinal. Para que isto aconteça devem resistir a passagem pelo estômago e intestino delgado já que o ácido clorídrico, pepsina, sais biliares e as enzimas pancreáticas apresentam forte poder bactericida. Muito importante que sejam conservados e transportados de forma adequada. De tal modo que, probióticos que necessitam serem conservados refrigerados, quando não o são, podem ter perda de cepas viáveis. Alguns microrganismos não podem ser transportados de avião por não resistirem a variação de pressão atmosférica. A conservação

dos probióticos pode ser influenciada também pela zona climática, de tal modo que pode haver diferença de viabilidade e ação em diferentes regiões do planeta.^{1, 49}

Para o desenvolvimento de um probiótico, deve-se respeitar longo período de estudo que engloba a escolha da cepa com potencial probiótico, o estudo de seu comportamento, teste de sua segurança e eficácia *in vitro* e posteriormente *in vivo*, passando por estudo em cobaias e posteriormente em humanos.⁵⁰

Depois de todo este processo os probióticos passam por processo de multiplicação para que possam ser comercializados, sendo muito importante um controle sobre eventuais mutações espontâneas ou induzidas por fagos pelo fabricante, já que estes fatores podem interferir na eficácia e principalmente na segurança da cepa ou cepas suplementadas.⁴⁹

Muito importante mencionarmos que probióticos não são iguais, embora possam existir características comuns a gêneros e espécies iguais, do mesmo jeito que somos todos *Homo sapiens*, existe grande variação de acordo com a cepa considerada. Assim existem bactérias de mesmo gênero e espécie, mas com cepas diferentes, o que pode acarretar respostas completamente distintas. Cepas diferentes de mesmo gênero e espécie podem ser tão parecidas como maçãs e peras.^{1, 51, 52}

A ação dos probióticos pode variar de acordo primeiro com a cepa, característica genética dos PRR, clima, temperatura, medicamentos e alimentos utilizados em conjunto e com o restante da microbiota do receptor. É muito importante que mencionemos que a associação de diferentes cepas em um único produto, não significa que isto leve a melhores respostas clínicas. Cepas diferentes podem competir por nutrientes e receptores, podem produzir

bacteriocinas que matam outras cepas, podem ter diferentes características no que diz respeito a interação com alimentos e medicamentos e sobrevivência em diferentes regiões climáticas. A ação dos probióticos também pode variar de acordo com a matriz utilizada, ou seja, probióticos em leites fermentados, podem funcionar de forma diversa quando são fornecidos em cápsulas. E, finalmente, como foi dito anteriormente, o uso de simbióticos (associação de prebióticos com próbióticos) não necessariamente é melhor do que probióticos isolados, já que para cada probiótico existe um prebiótico ideal.^{49,52}

A mensagem mais importante é que o efeito probiótico é cepa específico e deve ser estudado como tal. Quanto mais estudada a cepa, mais podemos confirmar suas indicações e eficácia em diferentes situações clínicas.

MICROBIOTA E IMUNIDADE

Desde o final do século XIX e início do século XX tem se tornado mais evidente o incremento na prevalência das doenças imunomediadas no mundo inteiro, numa velocidade de crescimento superior ao aritmético aumento populacional. Neste sentido, muitos estudos apontam para a relação do homem com o seu ambiente intra ou extra corporal, como um dos principais fatores envolvidos nesta situação epidêmica. Mudanças ambientais e climáticas, estilo de vida e dieta, qualidade da água e consolidação da higiene, automatização do processo agrícola com migração populacional para zona urbana, podem ser a base para os fatores transformadores da prevalência das doenças crônicas não-transmissíveis nos últimos 150 anos.⁵³

No intestino humano, encontramos os três domínios da classificação filogenética dos seres vivos: *Archaea*, *Bactéria* e *Eukarya*. Na grande maioria dos seres humanos o domínio Bactéria é representado, principalmente pelas

divisões *Firmicutes*, *Bacteroides* e em menor proporção *Proteobacteria*. Variações nas espécies bacterianas podem acontecer, principalmente em indivíduos não aparentados, já que a transmissão vertical, ou seja, a colonização da mãe para o filho é um fato.⁵⁴ A microbiota intestinal sofre expressivas mudanças desde o nascimento até os extremos da senilidade, reconfigurando seu perfil metagenômico, em resposta as mudanças dietéticas e as necessidades fisiológicas e imunológicas, que surgem no decorrer da vida. Esta plasticidade é estratégia fundamental para fazer frente às mudanças no estilo de vida e nos hábitos alimentares que aconteceram ao longo da nossa história, desde os caçadores da era paleolítica, passando pela era agrícola neolítica, até chegar à sociedade moderna ocidentalizada. Esta situação só foi possível, por meio de processo de co-evolução das comunidades bacterianas e do hospedeiro ao longo do tempo, onde ambas as partes se beneficiaram e, ainda continuam se beneficiando uma da outra, determinando uma situação mutual de convivência (mutualismo). Os microrganismos se beneficiam do ambiente intestinal estável e dos nutrientes que ali chegam, enquanto o hospedeiro se beneficia pela incorporação de produtos advindos da fermentação de fibras não-digeríveis, como AGCC, os quais seriam responsáveis por aproximadamente 10% da energia necessária para o funcionamento do organismo, pela produção das vitaminas K e B12, e pela defesa contra potenciais patógenos, por meio de exclusão competitiva e por fenômenos de imunomodulação.⁵⁵

A diversidade da microbiota humana se mostra, também, na diferença entre as populações bacterianas encontradas na luz intestinal, com relação aquelas aderidas ao epitélio (tipo biofilme), as quais parecem ter uma função benéfica

maior, pelo maior contato, quer seja na absorção de nutrientes ou na ativação de resposta imune inata.⁵⁴

Antes do nascimento, intra-útero, o feto encontra perfeitas condições para o seu desenvolvimento: uma dieta adequada, uma temperatura perfeita, um ambiente livre de patógenos e um mecanismo de tolerância imunológica (Th2 dependente), que o impede de ser rejeitado pelo organismo materno. Estudos recentes revelam a presença de microrganismos no líquido amniótico, nas membranas fetais, cordão umbilical, placenta e mecônio. Sendo que, neste último, encontramos dois momentos distintos: o primeiro menos diversificado e com predomínio de bactérias da família *Enterobacteriaceae*; o segundo, mais tardio e diversificado, tem predomínio de bactérias do filo *Firmicutes*, especialmente bactérias ácidoláticas. Esta população bacteriana difere do perfil encontrado na vagina, na pele ou nas fezes da mulher grávida, sugerindo que esta população de bactérias do mecônio tenha origem uterina, já que se assemelha ao perfil do líquido amniótico. Neste sentido, acredita-se que a colonização do trato gastrointestinal fetal possa acontecer, já intra-útero, pela deglutição do referido líquido.^{56,57} Ao nascimento, antes mesmo de realizar sua primeira respiração, esta criança já está sendo colonizada. Nas primeiras horas, ainda pela presença do oxigênio, o predomínio é de bactérias aeróbias, como o *Streptococos* e a *E. coli*. Mais tarde, à medida que o oxigênio vai sendo consumido, prevalecem as estritamente anaeróbias, como as *Bifidobactérias*, *Bacterióides* e o *Clostridium*.⁵⁸

O estabelecimento da microbiota acontece até o terceiro ano de vida, nos primeiros 1.000 dias, por isso o reparo em possíveis desvios na instalação deste órgão “metabólico”, durante este período, pode promover benefícios para

o desenvolvimento e a saúde futura da criança.⁵⁹ Duas condições são fundamentais para a instalação da microbiota adequada nas primeiras horas de vida, as quais seriam: o parto normal (por via vaginal) e o aleitamento materno exclusivo. Situações estas que, por mais naturais que possam parecer, hoje em dia, não fazem parte da nossa realidade. O leite materno contém uma série de fatores bioativos e imunostimulantes, que em parceria com a microbiota intestinal, direcionam a maturação morfo-fisiológica do intestino. Como por exemplo, oligossacarídeos livres, presentes em grandes concentrações no colostro, os quais servem de sítios de ligação para microrganismos benéficos à microbiota, como *Bifidobacterium spp*, reduzem a colonização por possíveis patógenos.⁵⁹ Um distúrbio nesta seqüência colonizadora, seja por fatores pré, intra ou pós gestacionais, pode estar relacionado a um potencial risco a longo prazo para a saúde deste indivíduo, já que algumas destas doenças da civilização moderna, têm sua gênese associada a falhas no desenvolvimento ou na função do sistema imunológico. Essas alterações do sistema imune, por sua vez, podem resultar da presença de *disbiose*, onde há um desequilíbrio do microbioma humano, quer seja pela diminuição das bactérias simbióticas ou pelo aumento das patogênicas.⁵⁸

A associação entre o perfil da microbiota intestinal, com predomínio de *Clostridium* e o risco de desenvolvimento de doenças alérgicas, como a dermatite atópica, aos cinco e 13 meses, tem sido relatada. Estes resultados do perfil microbiano também sofrem influência do número de contactantes no ambiente (número de filhos), o que pode sugerir participação da microbiota intestinal na gênese da hipótese da higiene.⁶⁰

Tanto o intestino quanto a pele, são locais onde existe um constante diálogo entre o sistema imunológico e os microrganismos. No entanto, os mecanismos moleculares que impedem uma resposta inflamatória deletéria e que permitem um processo de tolerância, ainda não são totalmente conhecidos. Muito provavelmente este mecanismo de tolerância imunológica acontece a partir do incremento na resposta linfocitária Th1-dependente após o nascimento, a qual se deve pelo início da estimulação antigênica, sobretudo por microrganismos não patogênicos encontrados no meio ambiente intra ou extra-corporal. Uma redução nesta resposta Th1 dependente, com conseqüente manutenção e incremento da resposta Th2 é encontrada nas crianças com risco para doenças atópicas, como a asma, além daquelas com diminuição na resposta a antígenos vacinais e maior susceptibilidade a infecções respiratórias.⁶¹

Postula-se que produtos microbianos, como aqueles encontrados na microbiota normal, com MAMPs associados a PRR, como os *TLR*, são elementos fundamentais para o início da resposta imune inata tolerogênica, com maturação e ativação de células T reguladoras e/ou de perfil Th1, que em conjunto modulam a resposta imune, por meio da síntese de citocinas, como a IL-10 e TGF-beta, as quais estão inversamente relacionados ao desenvolvimento de perfil atópico. Mais recentemente, no leite materno e outras secreções, tem se identificado um grupo moléculas pequenas, não-codificadas, de base RNA, chamadas de *microRNA*, as quais possuem papel na regulação gênica em nível pós-transcricional. Encontram-se em abundância no colostro e parecem influenciar o desenvolvimento gastrintestinal e imunológico de recém-nascidos, mas ainda não foram associados, de

maneira específica e significativa, com a prevenção de dermatite atópica em recém-nascidos de mães que ingeriram probióticos no período perinatal.^{61, 62}

Desta forma, é possível que a origem dos processos imuno-mediados, como as doenças alérgicas remonte as fases mais precoces da vida, por meio de complexa interação entre a susceptibilidade genética e o contato ambiental precoce, quer seja na vida intra-uterina pela exposição e experiências maternas ou no pós-natal imediato, produzindo diferenças fenotípicas entre aqueles que irão ou não desenvolver tais desequilíbrios imunológicos.⁶¹

Papel da Microbiota nas Doenças Hepáticas

Doença hepática gordurosa não alcoólica

A Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é uma das formas mais comuns de doença hepática, relacionada primordialmente ao aumento global da prevalência de obesidade, diabetes melito tipo 2 (DMT2) e síndrome metabólica (SM). Atualmente, sabe-se que é uma doença complexa que envolve fatores ambientais e predisposição genética.⁶³ A DHGNA abrange um espectro de alterações hepáticas que variam desde acúmulo de gordura $\geq 5\%$ dos hepatócitos sem inflamação ou fibrose (esteatose simples), até casos de esteatohepatite não-alcoólica (EHNA), cirrose e CHC, na ausência de consumo significativo de álcool.⁶⁴

A DHGNA está associada à componentes SM: DMT2 e resistência à insulina (RI), hipertensão arterial sistêmica (HAS), obesidade central e dislipidemia. Pode também estar associada a procedimentos cirúrgicos como *bypass* jejuno-ileal, desnutrição calórico-proteica, nutrição parenteral prolongada, endocrinopatias, uso de medicamentos e exposição a toxinas.^{65, 66}

O estilo de vida sedentário, a ingestão inadequada de alimentos com alto

consumo de gordura e frutose, bem como, obesidade, distúrbios metabólicos, estado hormonal e antecedentes genéticos também foram descritos como responsáveis pelo desenvolvimento da DHGNA.⁶⁷

A fisiopatologia da DHGNA ainda não está totalmente elucidada. Cerca de 10-25% dos pacientes com DHGNA desenvolvem EHNA⁶⁸ e os fatores responsáveis pela progressão de esteatose para EHNA ainda permanecem desconhecidos e são temas de extensa investigação. Atualmente, a maioria dos autores acredita na teoria dos múltiplos *hits*. O primeiro *hit* está intimamente associado a múltiplas anormalidades metabólicas, a qual destaca a RI como condição inicial para o acúmulo de AG nos hepatócitos, uma vez que favorece a lipogênese e inibe a lipólise, o que provoca o aumento excessivo do aporte de AG no fígado, seguido de uma sequência de eventos (múltiplos *hits*) como, o aumento do estresse oxidativo, estresse do retículo endoplasmático, disfunção mitocondrial e endotoxemia crônica (69).

Fatores endógenos como a microbiota intestinal também podem contribuir para o desenvolvimento da DHGNA. O aumento da permeabilidade intestinal e o supercrescimento bacteriano do intestinal delgado (SCBID) são frequentemente observados em pacientes obesos. Essas alterações induzem a lesão hepática por aumentar a produção de lipopolissacarídeos derivados das bactérias gram-negativas intestinais, ativando o NF- κ B e a produção de TNF- α , associando-se à progressão da esteatose para EHNA (70-72). Além disso, o aumento da permeabilidade intestinal leva à translocação bacteriana, permitindo que as endotoxinas produzidas por estas bactérias atinjam a veia porta ativando TLR nos hepatócitos (73), diminuindo a secreção do fator

adipocitário induzido pelo jejum (FIAF), aumentando a atividade da lipase lipoprotéica (LPL) e o acúmulo hepático de triglicerídeos (74, 75).

A expressão de TLR em diferentes tipos celulares é crítica na patogênese de doenças hepáticas crônicas. Especificamente, TLR2, TLR3 e TLR4 são altamente expressos nas células de Kupffer e respondem a estímulo das endotoxinas intestinais levando à produção rápida de TNF- α e IL-6. Além disso, a expressão de TLR pode ser encontrada em células epiteliais biliares, células estreladas, hepatócitos e células endoteliais sinusoidais hepáticas,⁷⁶ sendo fundamental para os processos fisiopatológicos que geram doenças hepáticas múltiplas, como hepatites virais, CHC, DHGNA, cirrose e fibrose.⁷⁷

Estudos recentes em modelos humanos e animais demonstraram que a microbiota intestinal é um fator importante para o armazenamento de energia e contribui para o aumento da adiposidade e desenvolvimento da DHGNA.^{78,79} Proporções menores de *Bacteroidetes* e altas proporções de *Prevotella* e *Porphyromas* foram encontradas em pacientes com DHGNA favorecendo uma maior extração de energia dietética e acúmulo de gordura, em comparação com indivíduos sem DHGNA.^{80,81} Estudo recente de Machado et al.⁸² também demonstrou aumento na quantidade de *Lactobacillus*, *Escherichia* e *Streptococcus*, bem como, diminuição de *Ruminococcaceae* e de *Faecalibacterium prausnitzii* em pacientes com DHGNA. Outro estudo recente realizado por Boursier et al.⁸³ demonstrou que a quantidade reduzida de *Bacteroides* foi associada de forma independente à EHNA e a prevalência de *Ruminococcus* foi associada com estágio de fibrose \geq F2. Já está bem documentado que a obesidade está associada à supercrescimento bacteriano do intestino delgado (SBID) e aumento da permeabilidade intestinal quando

comparado a indivíduos não obesos sem DHGNA.⁸⁴ Entretanto, o papel destes microrganismos na progressão da DHGNA para EHNA em pacientes magros com EHNA ainda merece ser mais bem explorado. É importante ressaltar que a maioria dos estudos em pacientes com DHGNA apresentam várias limitações, tais como: ausência de realização sistemática de biópsia hepática, populações heterogêneas (adultos vs crianças) e caracterização de microbiota intestinal realizada por diferentes métodos, tais como reação em cadeia da polimerase quantitativa (PCR) e pirosequenciamento.^{85,86}

Por outro lado, um dos mecanismos pelos quais a microbiota intestinal contribui para o desenvolvimento de DHGNA pode ser o aumento do número de bactérias produtoras de etanol (por exemplo, *Escherichia coli*).⁸⁰ O etanol produzido por estas bactérias contribui para alterações fisiológicas e morfológicas na barreira intestinal associada com SBID, aumentando a permeabilidade intestinal e, portanto, aumentando a passagem de endotoxinas a partir do lúmen do intestino para o sangue portal. Isso leva a um aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) que, conseqüentemente, no lúmen intestinal mesmo na ausência de ingestão de álcool. Verificou-se que uma dieta rica em açúcar refinado pode levar a níveis aumentados de álcool no sangue e que o etanol endogenamente sintetizado é eliminado pela via da enzima álcool desidrogenase (ADH) no fígado. Esta enzima converte o álcool em acetaldeído que, mesmo em pequenas concentrações, é tóxico para o organismo.⁸⁸

Zhu et al.⁸⁹ examinaram a composição da microbiota intestinal e os níveis de etanol no sangue de pacientes obesos e eutróficos com EHNA. Em comparação aos obesos sem doença hepática, pacientes com EHNA

demonstraram diferenças entre filos, famílias e gêneros em *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae* e *E. coli*, respectivamente. Algumas dessas alterações incluíram mais bactérias produtoras de álcool, associadas a um aumento significativo nos níveis de etanol nos pacientes com DHGNA em comparação com pacientes obesos sem DHGNA. Além disso, os níveis aumentados de etanol se correlacionaram especificamente com a presença de EHNA. Em suma, esses resultados sugerem que a produção de etanol pela microbiota intestinal pode contribuir para o desenvolvimento da DHGNA e sua progressão para EHNA.⁸⁹

Outro produto da metabolização de nutrientes pelas bactérias que pode ser tóxico para o fígado é o composto N-óxido de trimetilamina (TMAO). A microbiota intestinal pode promover a conversão de colina em trimetilamina (TMA) que, em seguida, vai chegar ao fígado pela circulação porta e será convertida em TMAO.⁸² O aumento na produção deste composto leva a uma diminuição da exportação de VLDL hepático e modulação da síntese do ácido biliar, com efeitos prejudiciais ao fígado, como aumento de deposição de gordura hepática, lesões inflamatórias e oxidativas e diminuição do metabolismo da glicose.⁹⁰

Estudo brasileiro recente demonstrou que pacientes com EHNA magros têm composição diferente da microbiota intestinal em comparação àqueles indivíduos com sobrepeso, obesos e sem DHGNA. Escore de fibrose ≥ 2 também foi associado à composição da microbiota intestinal, mas a ingestão de macronutrientes e calorias não foi associada às diferenças específicas na composição dos microorganismos intestinais fecais.⁹¹ No entanto, estes dados

precisam ser confirmados por estudos maiores, incluindo populações de pacientes estratificadas por sexo e hábitos alimentares.

Doença hepática alcoólica

Entre as causas de doença hepática crônica, a doença hepática alcoólica (DHA) é a mais frequentemente associada a internações hospitalares, com significativos custos e alta mortalidade. No entanto, ainda é dada pouca atenção à doença, posto que é aquela em que há o menor número de artigos publicados, bem como o menor número de apresentações nos grandes congressos de hepatologia.⁹²

Recentemente a European Association for the Study of the Liver (EASL) lançou o consórcio SALVE (Study of Alcohol Related Liver Disease in Europe), com o objetivo de recolher informações sobre a DHA, como aspectos clínicos e moleculares, mas também para definir um novo escore diagnóstico para a doença. O fato de a DHA ser uma doença tão antiga e prevalente, e ainda assim só agora seus critérios diagnósticos estarem sendo definidos ilustra a pouca importância que lhe foi dada ao longo dos anos. Estima-se que isso possa mudar no futuro próximo, e um dos motivos é que várias características associadas à DHA são similares àsquelas da doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA), incluindo história natural (esteatose, esteato-hepatite e fibrose), fatores genéticos (ex: polimorfismos do gene PNPLA3) e a presença de disbiose intestinal. A disbiose intestinal álcool-induzida, da mesma forma daquela induzida pela obesidade, leva à ativação da cascata de inflamação sistêmica via o sistema PAMPS-DAMPS-inflamassomas, o que contribui decisivamente para a evolução da doença.⁹³⁻⁹⁵ (Figura 1).

As alterações associadas à disbiose intestinal em pacientes com DHA são mais marcadas naqueles pacientes com hepatite alcoólica, geralmente cirróticos, em que se soma à disbiose álcool-induzida aquela relacionada à própria cirrose.⁹⁵ As opções terapêuticas na hepatite alcoólica são restritas, sendo que recente revisão Cochrane sugere que não há elementos que embasem o uso de quaisquer medicamentos na síndrome, incluindo corticosteroides.⁹⁶ Assim, há necessidade de novos agentes para o tratamento da doença. Entre os alvos potenciais está a atuação na microbiota intestinal, o que inclui probióticos, prebióticos, antibióticos e o transplante de microbiota.^{95,}
⁹⁷ Entretanto, não há estudos que efetivamente embasem a sua aplicação em humanos.

A importância clínica da DHA, a relevância da disbiose intestinal e a ausência de medidas terapêuticas eficazes, abre espaço para a realização de estudos experimentais na área. Discute-se, por outro lado, o uso de ratos para a avaliação da DHA, uma vez que esses animais não só têm aversão ao álcool, como são resistentes aos seus efeitos. Por outro lado, o zebrafish, poderia ser utilizado como um modelo animal de DHA.^{98,99} Recentemente foi publicado estudo brasileiro em zebrafish avaliando a intervenção em animais expostos ao álcool na água do aquário, alimentados ou não com probióticos. Houve diminuição, nos animais tratados, da esteatose hepática, da inflamação sistêmica avaliada pela ativação de inflamassomas, bem como maior expressão de *cln15a*, sugerindo efeito protetor do probiótico (100).

A microbiota provavelmente é um caminho a seguir, não só no entendimento da patogênese da DHA, como também em seu manejo, mas

ainda é cedo para que se possa recomendar qualquer intervenção na disbiose como forma de controle da DHA, incluindo probióticos.

Cirrose descompensada

A cirrose hepática pode resultar de diferentes mecanismos de injúria, com destaque para a infecção crônica pelos vírus da hepatite C e B, DHGNA, DHA e doenças autoimunes do fígado. A doença é caracterizada histologicamente por regeneração nodular difusa, densos septos fibrosos com subsequente extinção do parênquima e colapso estrutural.¹⁰¹ A cirrose hepática está associada não apenas a significativo impacto na sobrevida, mas também a significativa morbidade e elevados custos.¹⁰²

Nos últimos anos surgiram evidências de que a microbiota intestinal se encontra alterada na cirrose, independentemente de sua etiologia, promovendo um desequilíbrio ou disbiose, possivelmente implicado no desenvolvimento de complicações clínicas ou influenciando a gravidade da doença hepática.

A proliferação bacteriana pode ser afetada por diversos fatores anatômicos e fisiológicos do trato gastrointestinal como peristalse, acidez gástrica, quantidade e efeitos tóxicos da bile, presença de enzimas proteolíticas bacterianas, produção de muco, níveis de IgA secretória e a pressão na válvula íleo-cecal. Além disso, fatores externos, tais como, tipo de dieta, uso de antibióticos e fatores ambientais diversos podem afetar a composição da microbiota intestinal.¹⁰³⁻¹⁰⁶ Na disbiose, surgem alterações quantitativas (SBID) e qualitativas da microbiota intestinal. Supercrescimento bacteriano de intestino delgado, definido por $> 10^5$ unidades formadoras de colônia (UFC)/mL e/ou presença de bactérias de origem colônica no aspirado jejunal, está presente em 48 a 73% dos pacientes com cirrose.^{107,108} Em sua patogênese, fatores

como dismotilidade, diminuição de fluxo biliar e menor secreção de IgA e peptídeos antimicrobianos entéricos têm sido implicados.^{109,110}

Na cirrose, a composição da microbiota intestinal sofre mudanças taxonômicas devido à diminuição da proporção da taxa autóctone, que é benéfica ao hospedeiro, de *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* e *Clostridiales* XIV. Observa-se relativo aumento de bactérias potencialmente patogênicas como *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcaeae* e *Enterococcaceae*.^{111,112} A disbiose provoca consequências negativas pela redução da produção de AGCC, importantes para integridade dos colonócitos e pelos efeitos anti-inflamatórios locais na barreira mucosa, além de promover menor produção de peptídios antimicrobianos que reduzem a colonização por bactérias patogênicas. Há correlação entre o índice de disbiose da cirrose (relação Firmicutes/Bacteroidetes) e o grau decompensação clínica e endotoxemia.¹¹³ A disbiose, em associação com alterações na barreira mucosa (aumento da permeabilidade intestinal), contribui para a endotoxemia observada no paciente com cirrose.¹¹⁴

De fato, a translocação bacteriana é um evento fortemente relacionado à endotoxemia e decorre, sobretudo, de alterações na integridade da barreira mucosa na cirrose. O sistema imune inato representa a primeira linha de defesa contra patógenos, que são reconhecidos por um sistema que detecta *motifs* altamente conservados presentes nas bactérias (MAMPS- Microbial-Associated Molecular Patterns), mediante sua interação com receptores PRR (Pattern-Recognition Receptors) localizados na superfície celular e no compartimento endossomal. Dentre esses, destacam-se os TLR (Toll-like receptors), que reconhecem lipoproteínas triacil e diacil, flagelina e

lipopolissacárides microbianos, desencadeando respostas subcelulares que resultam na produção de citocinas próinflamatórias e endotoxemia. A translocação bacteriana ou de seus produtos pode ocorrer por três vias distintas na cirrose: a) via células dendríticas; b) via epitélio inflamado ou lesado, com aumento da permeabilidade; c) via mastócitos em contato com as placas de Peyer, que favorecem o acesso e o contato de produtos bacterianos com as células apresentadoras de antígenos.¹⁰⁷

Estudos indicam que a composição da microbiota está associada à gravidade e ao desenvolvimento de complicações clínicas da cirrose, em particular encefalopatia hepática (EH) e peritonite bacteriana espontânea (PBE). Os dados mais robustos publicados até o momento referem-se à participação da disbiose intestinal no desenvolvimento da EH. A disbiose favorece o aumento da produção de amônia, mercaptanos e fenóis e a exacerbação da resposta inflamatória mediada por endotoxinas. Um estudo de metagenômica de pacientes com cirrose demonstrou que genes bacterianos envolvidos na incorporação ou liberação de nitrato na molécula de amônia, desnitrificação e biossíntese de ácido gama-aminobutírico estão altamente representados (115). Esta observação está em linha com a demonstração do enriquecimento dos módulos de sistemas de transporte, em particular do manganês, na microbiota de pacientes com cirrose.¹¹⁶

Acute-on-chronic liver failure (ACLF)

Nos últimos anos, o conceito de ACLF foi cunhado para identificar pacientes com hepatopatias crônicas, particularmente cirrose, que evoluem com deterioração aguda da função hepática, precipitada tanto por lesão hepática sobreposta como por fatores extra-hepáticos.¹¹⁷ Desde então, um

número crescente de estudos abordando diferentes definições, critérios, escores e marcadores prognósticos, aspectos fisiopatológicos e clínicos da ACLF foram publicados. As duas definições de ACLF mais empregadas atualmente são aquelas do *North American Consortium for the Study of End-Stage Liver Disease* (NACSELD) e do consórcio EASL-CLIF. A definição do consórcio NACSELD utiliza os seguintes critérios para definição de falências orgânicas: 1) Falência cerebral – encefalopatia graus III ou IV; 2) Falência circulatória – PAM < 60 mmHg ou redução superior a 40 mmHg na PA sistólica basal a despeito de ressuscitação volêmica; 3) Falência respiratória – necessidade de ventilação mecânica; 4) Falência renal – necessidade de diálise.¹¹⁸ Em um estudo incluindo 2675 cirróticos hospitalizados, NACSELD-ACLF, definido como duas ou mais falências orgânicas, foi observado em cerca de 10% dos pacientes, com sobrevida global em 30 dias de 59% entre aqueles com ACLF e 93% nos indivíduos sem ACLF.¹¹⁹ A definição proposta pelo consórcio EASL-CLIF tem como base uma modificação do escore SOFA, denominado CLIF-SOFA, e foi proposta no estudo CANONIC que incluiu 1343 portadores de cirrose hospitalizados por descompensação aguda da doença em 29 centros especializados em hepatologia.¹²⁰ Com base nesses critérios os pacientes poderiam ser classificados como ACLF ausente e graus 1, 2 ou 3 (tabela 1), com taxas de mortalidade em 90 dias de 14%, 41%, 52% e 79%, respectivamente.¹²⁰

ACLF é considerado evento tardio na história natural da cirrose e que está relacionado a padrão de disfunção imune similar ao observado na sepse. Níveis elevados de citocinas inflamatórias são observados em ACLF, mesmo na ausência de infecções.¹²¹ Entretanto, paradoxalmente, esses pacientes

também apresentam estado de imunossupressão acentuada que está relacionado à ocorrência de infecções secundárias.¹²² Alterações da microbiota intestinal são esperadas nesta situação de disfunção orgânica avançada em cirróticos, seja como causa contribuinte ou consequência das profundas alterações imunes. De fato, um estudo que incluiu 219 cirróticos, 44 deles hospitalizados, demonstrou mudanças progressivas da microbiota intestinal de acordo com progressão da cirrose.¹¹³ Neste estudo, pacientes com ACLF apresentaram uma redução nos Gram positivos *Clostridiales* XIV e *Leuconostocaceae*.¹¹³ Em outro estudo que também avaliou amostras fecais, 79 pacientes com ACLF foram comparados a 50 controles saudáveis.¹²³ ACLF se relacionou à diminuição na diversidade microbiana e disbiose, com diminuição na abundância de *Bacteroidaceae*, *Ruminococcaceae* e *Lanchnospiraceae*, porém com aumento na abundância de *Pasteurellaceae*, *Streptococcaceae* e *Enterococcaceae*.¹²³ De forma interessante, um aumento na abundância da família *Pasteurellaceae* foi relacionada mortalidade em pacientes com ACLF.¹²³ Mais recentemente, em um estudo multicêntrico incluindo 181 pacientes com cirrose foi observado aumento da abundância de constituintes do filo *Proteobacteria*, e essa alteração foi associada à falência orgânica extra-hepática, ACLF e morte, independente de outros fatores clínicos.¹²⁴

Esses achados sugerem que as alterações da microbiota intestinal são pronunciadas na presença de descompensações avançadas da cirrose e ACLF. A disbiose parece se relacionar tanto à progressão para disfunção orgânica quanto ao prognóstico em pacientes hospitalizados com descompensação aguda. Entretanto, as características das evidências

atualmente disponíveis não permitem estabelecer umnexo causal claro entre as associações observadas. Novos estudos são necessários visando esclarecer as relações entre a composição do microbioma e as complicações da cirrose, bem como investigando possíveis intervenções terapêuticas em pacientes com ACLF.

Uso de pré-, pró- e simbióticos nas doenças hepáticas

As evidências da relação entre microbiota e doenças hepáticas são crescentes. Uma busca na base de dados PubMed em maio de 2019 encontrou mais de 750 artigos sobre o tema (Figura 2). De fato, o eixo fígado-intestino é uma unidade anatômica e funcional, e a disbiose intestinal influencia de forma significativa a resposta imune hepática. A inflamação intestino-derivada, através de PAMPS, lipopolissacárides e mesmo patógenos viáveis, atua como promotora de lesão hepática, o que inclui a progressão de inflamação à fibrose, cirrose, hipertensão portal (HP) e carcinoma hepatocelular (CHC). Assim, a intervenção no intestino com o uso de probióticos, especialmente, mas também de prebióticos e simbióticos, tem sido feita em várias doenças, como a DHGNA e cirrose.

Desde a publicação do primeiro ensaio clínico randomizado (125), várias tentativas foram feitas na avaliação da utilidade e segurança desses compostos na evolução das hepatopatias. Apesar do número de publicações, o uso de probióticos na prática clínica ainda é motivo de controvérsia.⁹⁴ Foi realizada uma revisão sistemática de artigos publicados sobre o tema em bases de dados como PubMed, Medline, Cochrane, Lilacs e Scopus no mês de maio de 2019, a fim de responder a seguinte questão: “É

eficiente e seguro o uso de pré-, pró- e simbióticos nas doenças hepáticas?” (Figura 3).

Os unitermos utilizados foram: probióticos, prebióticos, simbióticos, psicobióticos, pós-bióticos, microbiota e doenças hepáticas. A Figura 4 mostra o resultado da busca. Foram avaliados todos os resumos e foram selecionados os artigos em humanos que preenchiam os critérios de inclusão: ensaios clínicos randomizados (ECR) em doenças hepáticas diversas, comparados ou não a placebo, em qualquer língua. A partir daí, todos os artigos foram buscados em sua versão integral e avaliados conforme o propósito da revisão.

Dos 50 ECR selecionados, 35 foram publicados até 2013, e 25 a partir de 2014, inclusive. É notável a mudança de perfil entre os artigos: os primeiros dedicavam-se mais às complicações da cirrose, principalmente encefalopatia hepática (EH) e os segundos prioritariamente à DHGNA. A Tabela 2 resume alguns dos principais estudos publicados a partir de 2014.

De forma geral os estudos são ainda restritos, com tamanhos amostrais pequenos e com uso de desfechos substitutivos. Os probióticos variam em sua apresentação, e as doses e os tempos de uso são diversos. A análise de segurança é pouco referida nos estudos.^{94,126} Os efeitos, tomados em conjunto, e restritos às situações clínicas mais estudadas (DHGNA e EH), são em geral positivos, mas de discutível significado clínico. Revisões e metanálises sobre o tema foram publicadas nos últimos anos.^{95,127-130} e a conclusão desta revisão não difere do apontado nesses outros artigos: a abordagem tem um sólido referencial teórico e parece promissora, no entanto, ainda é precoce a recomendação de seu uso clínico. Estudos com amostras maiores e tempo de tratamento mais prolongado, com agentes mais bem padronizados em relação

à sua apresentação e número de colônias, utilizando desfechos objetivos, como biópsia hepática, e não substitutivos, de acordo com a doença em avaliação, são necessários para que se possa ter uma real dimensão da utilidade dos probióticos em humanos.

Papel da Microbiota nas Doenças Gastrointestinais

Doença Inflamatória Intestinal

As doenças inflamatórias intestinais (DII) são enfermidades crônicas caracterizadas por processo inflamatório crônico do trato gastrointestinal e compreendem a doença de Crohn (DC) e a retocolite ulcerativa idiopática (RCUI). A etiologia é multifatorial, porém acredita-se que ocorra ativação do sistema imune contra antígenos da microbiota intestinal em indivíduos geneticamente susceptíveis.¹³¹

O microbioma intestinal de portadores de DII apresenta uma acentuada disbiose, consistindo numa redução geral da diversidade microbiana,^{132,133} bem como redução de bactérias essenciais para a homeostase intestinal, tais como membros da classe *Clostridia* e, em paralelo, aumento de bactérias potencialmente patogênicas, tais como *Escherichia coli adherent and invasive* (AIEC).¹³⁴ Uma das alterações mais proeminentes tem sido a redução de bactérias do filo *Firmicutes* e, conseqüentemente, da *Faecalibacterium prausnitzii*,¹³⁵ além da redução de outras bactérias com propriedades anti-inflamatórias, como as *Bifidobacteria*.¹³³ A disbiose favorece a instalação e/ou proliferação de diferentes categorias de patógenos no intestino que, através de seus fatores de patogenicidade, contribuem para a manifestação e/ou agravamento das lesões, através de mecanismos que incluem aumento da

permeabilidade intestinal, aumento da exposição aos antígenos, estimulação do sistema imune e conseqüentemente dano tecidual.

Interessante comentar que a composição da microbiota materna pode influenciar a microbiota intestinal e o desenvolvimento do sistema imune do bebê. Mães portadoras de DII e seus bebês apresentam alteração da composição e da biodiversidade bacteriana intestinal,¹³⁶ caracterizadas pelo aumento de *Gammaproteobacteria* e depleção de *Bacteroidetes* nas mães e aumento de *Gammaproteobacteria* e depleção de *Bifidobacteria* nos recém-nascidos.¹³⁶ Acredita-se que essa alteração pode influenciar o desenvolvimento do sistema imune do bebê e levar ao aumento de susceptibilidade para o aparecimento da doença no futuro.

A microbiota intestinal participa da regulação de vários sistemas do organismo através de seus metabolitos, os AGCC, principalmente acetato, propionato e butirato.⁷ Essas substâncias são produzidas no cólon a partir da fermentação de carboidratos não digeríveis e modulam a resposta imune sistêmica, regulando a função de quase todo tipo de célula imune, alterando a expressão gênica, diferenciação, quimiotaxia, proliferação e apoptose.¹³⁷

A administração de butirato ou mesmo prebióticos, probióticos ou simbióticos, assim como o transplante de microbiota fecal são estratégias promissoras para a correção da disbiose e modulação da microbiota intestinal. Todavia, apesar de alguns resultados positivos, os dados são insuficientes para a indicação dessas estratégias na prática diária na DII.

Probióticos podem ser considerados na manutenção da remissão da RCUI e as cepas *Escherichia coli* Nissle 1917 ou VSL#3 podem ser consideradas para indução da remissão na atividade leve a moderada da

doença(138). O uso de probióticos não é recomendado para indução da remissão ou manutenção da remissão na doença de Crohn.¹³⁸

O transplante de microbiota fecal consiste na infusão de uma suspensão fecal de um indivíduo saudável dentro do trato gastrointestinal de uma pessoa doente. Ensaio clínico mostram resultados positivos na indução da remissão clínica e endoscópica nos pacientes com RCUI ativa quando comparado ao placebo,^{139,140} porém faltam estudos mais consistentes com número maior de participantes para a consolidação da técnica. Além disso, ainda há outras questões a serem respondidas, tais como: qual seria o doador ideal, uso de fezes de doador único ou pool de fezes, uso prévio de antibióticos no receptor, uso de fezes frescas ou congeladas ou até fezes liofilizadas, administração por sonda enteral, colonoscopia, enema de retenção ou via cápsulas, além da periodicidade de realização do procedimento.

Em resumo, portadores de DII apresentam alteração na composição da microbiota intestinal e diminuição da diversidade bacteriana, caracterizando um estado de disbiose intestinal. Probióticos podem ser considerados na indução e na manutenção da remissão na RCUI, porém não há indicação de seu uso na DC. Faltam estudos para que o transplante de microbiota fecal seja indicado como tratamento da DII na prática diária.

Diarreia associada a antibióticos e *Clostridium difficile*

Nas últimas décadas o uso indiscriminado de antibióticos tem gerado uma mudança significativa da microbiota intestinal com redução da sua diversidade, perda da homeostase e maior susceptibilidade a infecções, especialmente pelo *Clostridioides difficile*. Estima-se que entre 5 a 35% dos pacientes em uso de

antimicrobiano apresentem diarreia como efeito adverso e que o *C. difficile* represente até ¼ destes casos.^{141,142}

O *C. difficile* é um bacilo gram positivo, anaeróbio, com elevado potencial de germinação e produção de toxinas. Foi descrito em 1935 em recém-nascidos e atualmente é a causa mais comum de diarreia em ambiente hospitalar. Nas últimas décadas tem se observado um aumento importante do número de indivíduos infectados e nos Estados Unidos a prevalência estimada é de 500.000 casos/ano.¹⁴³

Além do uso de antimicrobianos, outros fatores de risco estão relacionados à disbiose e infecção pelo *C. difficile* como idade superior a 65 anos, hospitalização prolongada, neoplasia ativa, doenças inflamatórias intestinais, doença renal crônica e o uso de inibidor de bomba de prótons (Figura 5). De fato, em até 40% dos pacientes não se identifica exposição prévia a antibióticos.¹⁴⁴

A diarreia induzida por antibióticos tem apresentação clínica branda e diretamente relacionada ao espectro de ação da droga. Dentre as mais frequentemente implicadas estão a clindamicina, cefalosporinas e a amoxicilina/clavulanato. Enquanto que na infecção por *C. difficile* pode haver progressão para colite pseudomembranosa, megacólon tóxico, perfuração intestinal e óbito. A mortalidade dos pacientes que apresentam colite é de 22% em 90 dias e no ano de 2014 29.000 mortes foram atribuídas à doença.¹⁴⁵

Alguns mecanismos fisiopatológicos têm sido propostos para justificar a germinação de bactérias não patogênicas no cólon como o papel do metabolismo dos ácidos biliares (Figura 6). Em indivíduos saudáveis as bactérias colônicas são responsáveis pela desconjugação e 7 α -desidroxilação

dos sais biliares primários (ácido cólico e quenodesoxicólico) em secundários (litocólico e desoxicólico) e estes últimos inibem por competição direta a disseminação de cepas do *C. difficile*. Em situações de disbiose antibiótico-induzida há menor formação de ácidos biliares secundários e por consequência maior proliferação e esporulação do *C. difficile*.¹⁴⁶

Estudos experimentais em camundongos tratados com antibióticos demonstram uma redução significativa da diversidade da microbiota intestinal com aumento da população do filo *Proteobacteria*, redução de *Firmicutes* e de *Bacteroidetes*. O tempo para restabelecimento da flora bacteriana nestes animais variou entre 2 semanas a 6 meses.¹⁴⁶

Além disso, a análise detalhada do fenótipo e da função da microbiota através do metaboloma aponta para uma desregulação do metabolismo de carboidratos e aminoácidos. A disbiose induzida por antibióticos reduz a produção de AGCC como o butirato e aumenta a probabilidade de colonização por *C. difficile*.¹⁴⁶

O papel da microbiota na infecção por *C. difficile* é bem estabelecido e uma das implicações práticas é a indicação de transplante fecal no tratamento de casos recidivantes. O uso de probióticos também parece prevenir a ocorrência de diarreia associada a antibióticos ao reestabelecer a permeabilidade e o microambiente intestinal.^{147,148}

Algumas metanálises publicadas na literatura sugerem benefício do uso de cepas de *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus*, *Bifidumbacterium* e *Streptococcus*. O número necessário para tratar foi de 12 a 40 e 10 a 67 para prevenir um episódio de diarreia associada a antibiótico e infecção por *C. difficile*, respectivamente.¹⁴⁹

A revisão sistemática da Cochrane mais recente incluiu cerca de 8.500 casos e demonstrou um benefício moderado na prevenção de diarreia por *C. difficile*, principalmente em pacientes de risco baixo a intermediário. As principais limitações desta metanálise foram a heterogeneidade entre os estudos e o uso de diferentes cepas, doses ou tempo de administração.¹⁵⁰

Estudos futuros são necessários para definir a cepa mais adequada para cada paciente, a quantidade de bactérias, o tempo de uso e os efeitos colaterais relacionados ao probiótico.

Síndrome do intestino irritável e constipação funcional

As doenças funcionais representam afecções bastante comuns e que se caracterizam por fisiopatologia bastante complexa, que inclui entre outros a presença de aumento da permeabilidade intestinal, infiltrado inflamatório intestinal, alteração da expressão de vários receptores, hipersensibilidade visceral e principalmente funcionamento anômalo do eixo cérebro-intestino e disbiose. Este estado, embora bastante difícil de ser entendido, pode ser definido por um desequilíbrio entre as bactérias “boas e ruins” que colonizam o nosso tubo digestivo, falta de estabilidade da microbiota e principalmente diminuição da diversidade bacteriana intestinal. Parecem ser claras as diferenças observadas quando comparamos indivíduos saudáveis com outros portadores de doenças funcionais. Entre estas afecções a síndrome do intestino irritável (SII) talvez seja uma das doenças funcionais mais estudadas. Nesta afecção, estudos puderam observar nítida diferença de microbiota quando comparamos pacientes com controles saudáveis. A análise da microbiota ora mostra aumento de determinados microorganismos (como

Lactobacillus, *Veillonella* e *Enterobacteriaceae*), ora diminuição de outros (como *Bifidobacterium*, *Clostridium*). É clara, contudo, a conclusão de que na SII, a microbiota se diferencia tanto em número, como em diversidade dos microrganismos encontrados. O que precisa ser ainda estabelecido é se este padrão de disbiose encontrado na SII é específico para esta afecção ou não.¹⁵¹ Assim, abordagem lógica para o tratamento de síndromes funcionais, consistiria na correção desta microbiota desequilibrada. Isto pode ser obtido de várias maneiras como por exemplo, pela modificação da dieta, realização de exercícios físicos, uso de medicamentos que alterem de alguma maneira a motilidade, sensibilidade, imunidade intestinal ou usando mecanismos que possam modificar ou reequilibrar diretamente como antibióticos, mas especialmente os probióticos, prebióticos e eventualmente inclusive transplante de fezes, embora a segurança desta última abordagem seja ainda motivo de grande discussão, o que faz ainda que este processo, para esta indicação seja restrito somente a protocolos de pesquisa.^{34,152}

A suplementação com probióticos, pode restituir a eubiose, modificando ainda funções metabólicas, imunes, motoras e eixo cérebro-intestinal. Várias metanálises que incluíram estudos com cepas múltiplas e únicas, trouxeram resultados bastante variáveis, dependentes não só do gênero e espécie utilizados, mas principalmente das cepas envolvidas. Houve ainda grande discrepância quanto ao número de pacientes estudados, tempo de tratamento e tipo de associação de cepas. Sendo a resposta probiótica cepa específica, metanálises que englobam diferentes tipos de cepas e associações devem ser interpretadas com cautela. Seriam de fato necessárias metanálises com um

tipo de cepa ou com a mesma associação de cepas para que pudéssemos chegar a conclusões mais fidedignas.¹⁵³⁻¹⁶⁰

Nesta situação clínica ainda não podemos recomendar uma cepa específica que tenha suficiente respaldo específico para ser utilizada para este fim, especialmente no que diz respeito as diferentes apresentações clínicas desta síndrome, isto é, com predomínio de diarreia, constipação ou mista. A grande diferença entre a SII e outras doenças funcionais como a diarreia e a constipação, consiste na presença de dor abdominal, de tal modo, que não basta na SII, a simples correção do hábito intestinal e consistência fecal, havendo necessidade também do controle da dor abdominal, para que o paciente de fato melhore sua qualidade de vida, tornando difícil o uso somente dos probióticos para condução desta síndrome. Aparentemente a suplementação de probióticos específicos pode atuar como terapia adjuvante.^{159, 161-163}

As cepas recomendadas pela Organização Mundial de Gastroenterologia para uso na SII são as seguintes:¹⁶⁴ *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75, *Lactobacillus plantarum* 299v (DSM 9843), *Escherichia coli* DSM17252, *Lactobacillus rhamnosus* NCIMB 30174, *L. plantarum* NCIMB 30173, *L. acidophilus* NCIMB 30175, *Enterococcus faecium* NCIMB 30176, *Bacillus coagulans* e frutooligossacarídeos, *Lactobacillus animalis* subsp. *lactis* BB-12®, *L. acidophilus* LA- 5®, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LBY-27, *Streptococcus thermophilus* STY-31 e *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745.

Estudos mais recentes têm observado que para controle de sintomas gerais associados à SII, bifidobactérias parecem levar a melhor alívio dos sintomas,

entretanto para tratamento de distensão e “bloating” os lactobacilos parecem ser superiores.^{165, 166}

É importante que mencionemos que sendo a SII uma afecção crônica, a suplementação probiótica também deve ser feita de forma prolongada. No caso da constipação funcional, a simples correção do hábito intestinal e da consistência fecal, trazem grande melhora da qualidade de vida dos pacientes. Aqui novamente grande número de estudos foram conduzidos novamente com grande variedade de cepas e combinações utilizadas. Existe também boa evidência entre diferentes padrões de microbiota entre pacientes constipados e não constipados. Os probióticos podem intervir diretamente no trânsito intestinal, estimulando liberação de vários neurotransmissores localmente ou modulando a ação do eixo cérebro-intestinal. A produção de AGCC via fermentação carboidratos não digeridos também parece participar de forma efetiva no efeito benéfico encontrado com suplementação probiótica.¹⁶⁷⁻¹⁷⁰

A organização mundial de gastroenterologia recomenda as seguintes cepas na constipação funcional:¹⁶⁴ Combinação de cepas *Bifidobacterium bifidum* (KCTC 12199BP), *B. lactis* (KCTC 11904BP), *B. longum* (KCTC 12200BP), *Lactobacillus acidophilus* (KCTC 11906BP), *L. rhamnosus* (KCTC 12202BP) e *Streptococcus thermophilus* (KCTC 11870BP) e como cepa isolada o *Lactobacillus reuteri* DSM 17938.

Diarréias agudas infecciosas

A diarreia é manifestação clínica comum a várias doenças podendo ser definida pela presença de três ou mais evacuações ao dia geralmente com fezes de consistência diminuída, ou pela eliminação de mais de 200g de peso

fecal ao dia. Entretanto, mudanças no ritmo normal evacuatório habitual, tanto na consistência quanto no número de dejeções tendem a ser mais importantes do que especificamente, aspecto ou número de evacuações. Durante os primeiros meses de vida, as crianças, especialmente aquelas alimentadas com leite materno, podem apresentar normalmente cerca de 8 a 10 evacuações diárias com fezes semilíquidas, sem que isso possa ser chamado de diarreia.

171,172

Deve ser considerada diarreia aguda (DA) quando apresenta duração inferior a duas semanas, apresentando usualmente curso autolimitado. A grande maioria das vezes, a DA tem sua resolução em cerca de 7 dias, havendo progressivamente menos casos com melhora em 14, 21 ou 28 dias. Pode-se ainda reservar o termo de diarreia persistente, para os casos com duração superior a 14 dias. Este limite de 14 dias pode parecer arbitrário, entretanto, tem seu suporte baseado no fato de que a mortalidade aumenta bastante após este período. A diarreia persistente é mais encontrada em crianças menores de 5 anos, excluindo-se doenças orgânicas como doença celíaca, espru tropical, fibrose cística, DC, RCUI, etc. Nos pacientes com quadro superior a 4 semanas a diarreia é considerada crônica.¹⁷³

As diarreias são implicadas como a segunda causa de mortalidade em todo o mundo e primeira quando analisada a população pediátrica, sendo maior, quanto piores as condições sanitárias. Sua frequência é talvez subestimada, já que grande parte dos casos têm resolução espontânea, não chegando aos serviços médicos. Estima-se que no mundo inteiro, crianças menores de 4 anos, apresentam 3,2 episódios de diarreia ao ano, levando a 3,8 mortes para cada mil crianças nesta faixa etária.¹⁷⁴ Notamos diminuição das taxas de

mortalidade nos últimos anos, especialmente quando estudamos crianças menores de 1 ano, provavelmente devido ao uso cada vez mais difundido de soluções de hidratação oral, juntamente com amamentação natural e melhoria das condições sanitárias.¹⁷¹ Em adultos, estima-se que 20% da população apresente pelo menos um episódio de diarreia ao ano, reconhecendo-se um agente infeccioso em 30-40% dos casos, com destaque para as causas virais. São vários os fatores de risco para o aparecimento da diarreia: viagens recentes para áreas de saneamento básico ruim, campistas (fontes de água contaminada), ingestão de alimentos suspeitos (frutos do mar, salgadinhos, maionese, restaurantes, banquetes, etc), grupos de risco (homossexuais, trabalhadores do sexo, usuários de drogas intravenosas, etc), uso recente de antibióticos, hipocloridria.¹⁷⁵

A presença de diarréia traduz uma alteração na barreira intestinal existente em nosso organismo, o qual em estado de saúde, através da produção adequada de muco, IgA e defensinas, além da atividade dos “tight junctions”, é capaz de evitar que a microbiota nociva aí existente provoque doença. Em quadros de disbiose (desequilíbrio entre a microbiota eubionte e patobionte), ocorre perda desta barreira protetora, com diminuição da secreção de muco, IgA e defensinas, além de perda de eficácia dos “tight junctions”, aumentando a permeabilidade intestinal e permitindo que agentes patogênicos penetrem na mucosa, desencadeando assim processo inflamatório que vai culminar com aumento da secreção e da motilidade intestinal, que se traduz por diarreia.¹⁷⁶

O tratamento das DA se inicia com sua prevenção, que por sua vez passa por melhoria das condições de saneamento básico, orientações básicas de higiene especialmente para profissionais que lidam com manipulação de alimentos e

por último a vacinação para o rotavírus, ainda uma causa bastante importante de DA tanto em crianças quanto em adultos. Outra abordagem profilática seria o uso de probióticos em populações de alto risco como crianças institucionalizadas ou em viajantes para áreas de baixas condições de saneamento. Nesta indicação as evidências são menos robustas embora existam trabalhos que mostrem resultados bastante promissores.¹⁷⁷⁻¹⁷⁹

Uma vez iniciado o quadro diarreico, sua abordagem clínica deve ser relacionada para diminuição das dejeções, sua quantidade, tratamento dos sintomas associados como febre, náuseas, vômitos e cólicas abdominais, além principalmente, da correção dos distúrbios hidroeletrólíticos, focando especialmente na hidratação oral ou parenteral dependendo da situação.^{178, 180-}

184

A suplementação com probióticos na DA faz todo sentido, já que as infecções intestinais são considerada exemplos clássicos de desequilíbrio da microbiota.

Estes organismos vivos, participam do tratamento da gastroenterocolite aguda de várias maneiras. Inicialmente deslocam patógenos de seus receptores, competem por nutrientes na luz intestinal, promovendo a fermentação bacteriana, liberam AGCC (butirato, lactato, propionato), que por sua vez diminuem o pH luminal impedindo a proliferação de outras cepas agressoras. O butirato especialmente participa ainda nutrindo os colonócitos e aumentando sobremaneira a absorção de água e eletrólitos. Os probióticos ainda são importantes nesta situação clínica, porque exercem efeito imunomodulador.

185,186

Em diarreias virais é comum haver lesão mucosa superficial, promovendo perda de dissacaridases, especialmente a lactase, fazendo com estes

pacientes possam desenvolver intolerância a lactose secundária dificultando o controle da DA. Os lactobacilli, podem diminuir esta intolerância produzindo beta-galactosidase (lactase).¹⁸⁷

A suplementação com probióticos tem se mostrado em média capaz de reduzir o tempo de diarreia em cerca de 24 horas. Em crianças especialmente está relacionada, com diminuição de dias de febre e também de internação hospitalar. A evidência maior de seu benefício é em pediatria, que representa também a população mais vulnerável às diarreias infecciosas, sendo portanto também bem mais estudada do que os adultos. As cepas com mais evidência para estes fim nesta população são o *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Saccharomyces boulardii* e o *Lactobacillus reuteri* DSM17938.^{182,188-198}

Em adultos os estudos são mais escassos, a Organização Mundial de Saúde (OMS), recomenda as seguintes cepas para o tratamento de diarreia aguda em adultos: *Lactobacillus paracasei* B 21060 ou *Lactobacillus rhamnosus* GG 10⁹ UFC, duas vezes ao dia, *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745, cepa de *S. cerevisiae* 10⁹ UFC ou cápsula de 250 mg também duas vezes ao dia(164).

A Sociedade Americana de Doenças Infecciosas em recente diretriz, recomenda uso de probióticos em adultos para redução da gravidade dos sintomas e duração da diarreia aguda infecciosa.¹⁹⁹

Mais recentemente ainda o Colégio Americano de Gastroenterologia encontrou evidências para uso de duas cepas na diarreia aguda leve a moderada, *Saccharomyces boulardii* e o *Lactobacillus* SF68.¹⁴⁹

Tratamento do *Helicobacter pylori*

O *Helicobacter pylori* (Hp) representa uma das infecções mais prevalentes em

todo o mundo infectando praticamente metade da população de nosso planeta. Em nosso meio estima-se prevalência entre 60-70% de toda a população, com áreas de maior ou menor prevalência dependentes das condições de saneamento básico da região. O Hp tem sua erradicação recomendada em uma série de situações clínicas e sua importância é tal que motiva a realização de vários consensos para normatização de seu tratamento e acompanhamento de sua evolução. O tratamento envolve uso de diferentes combinações antibióticas, sempre associadas a um inibidor de bomba de prótons ou mais recentemente, no Japão, associadas a um inibidor competitivo dos canais de potássio (vonoprazan).²⁰⁰⁻²⁰³

O uso de antibióticos está sabidamente relacionado com grande desequilíbrio da microbiota intestinal, podendo trazer várias consequências para nossa saúde. Recentemente, podemos observar aumento progressivo da resistência bacteriana, incluindo o Hp a gama variada de antibióticos, fazendo com que haja necessidade de utilização de esquemas mais longos e eventualmente de uso de vários esquemas por falta de resposta ao esquema inicial.²⁰³

A suplementação com probióticos junto com o esquema antibiótico durante a erradicação do Hp, tem sentido para tentar minimizar os efeitos deletérios da antibioticoterapia, limitando efeitos adversos, fazendo com a aderência melhore e o paciente fique mais confortável. Outra função seria efeito direto sobre o Hp com intuito de aumentar os índices de erradicação. Lembrando que a aderência é um fator importante que se correlaciona diretamente com o sucesso do tratamento.^{200, 203}

Os probióticos podem então melhorar a erradicação do Hp por vários mecanismos: efeito bactericida direto atuando sobre a urease bacteriana, via

produção de bacteriocinas, efeito imunomodulador via ação sobre PRR, atuando como varredores de radicais livres liberados no estômago pelo Hp. Alguns trabalhos podem mostrar também efeito aditivo dos probióticos na prevenção da colonização gástrica pelo Hp.²⁰⁰

Algumas cepas probióticas de lactobacilos, bifidobactérias e o *Saccharomyces*, mostraram-se eficazes em reduzir atividade do Hp in vitro. Entretanto, novamente estes efeito é cepa específico e não deve ser generalizado para todos os probióticos. De uma maneira geral os resultados são bastante promissores, mostrando-se que determinadas cepas podem sim reduzir os efeitos adversos do tratamento antibiótico e eventualmente aumentar os índices de erradicação. É também motivo de discussão o momento que os probióticos devem ser iniciados e por quanto tempo. Parecer haver mais benefício na suplementação probiótica iniciando-se cerca de 7 dias antes, mantendo-a até 7 dias depois do término dos antibióticos, estando-se ainda longe de um consenso sobre isto também. O último Consenso Brasileiro do *Helicobacter pylori*, ainda não recomenda o uso de probióticos para os fins acima citados, já que ainda carecemos de estudos mais bem conduzidos com cepas específicas para este fim, conclusão que corrobora com outros consensos internacionais. Recente metanálise sobre o assunto pôde mostrar que aparentemente a suplementação com probióticos pode reduzir efeitos adversos da terapia de erradicação.^{200, 204, 205}

A Organização Mundial de Gastroenterologia cita algumas cepas probióticas como promissoras para serem utilizadas no tratamento do Hp:¹⁶⁴ *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (DSM15954) + *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, *Lactobacillus*

acidophilus + *L. bulgaricus* + *Bifidobacterium bifidum* + *Streptococcus thermophilus* e galactooligosacarídeos, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecalis* e *Bacillus subtilis*.

O Colégio Americano de Gastroenterologia cita os seguintes probióticos envolvidos em estudos bem conduzidos e com alguma evidência para serem utilizados para este fim:¹⁴⁹ *Lactobacillus* (*acidophilus*, *bulgaricus*, *casei*, *delbrueckii*, *gasseri*, *paracasei*, *plantarum*, *reuteri*, *ramnosus* GG); Bifidobacteria (*B-12*, *bifidum*, *breve*, *clausii*, *DN-173*, *infantis*, *lactis*, *longum*); *Streptococcus* (*faecium*, *thermophiles*); *Clostridium butyricum*

PAPEL DA MICROBIOTA: MUITO ALÉM DO TUBO DIGESTIVO

Prevenção e tratamento do câncer

O câncer é uma das principais causas de morte no mundo. Trata-se de doença multifatorial, que envolve fatores genéticos e ambientais. Sabe-se que a condição imunológica do indivíduo tem influência considerável no desenvolvimento desta doença, e que a microbiota humana por sua interação com o sistema imune e importância na homeostase, participa deste processo de adoecimento, tornando-se hoje alvo de estudo na sua prevenção e tratamento.^{206, 207}

A ação imunomoduladora da microbiota baseia-se na interação das bactérias intestinais e seus metabólitos com o sistema imune e células epiteliais e já foi descrita com detalhes anteriormente neste documento. Os probióticos podem exercer aumento ou supressão da produção de citocinas inflamatórias e modulação da secreção das prostaglandinas. A inflamação por sua vez pode levar a mutações e instabilidades no genoma, em regiões ligadas à proliferação

de células cancerígenas, bem como produção de enzimas remodeladoras de tecidos e fatores angiogênicos e de crescimento.^{208, 209}

Os mecanismos específicos sobre a atividade antitumoral dos probióticos ainda não estão completamente estabelecidos, porém diversas vias de ação conhecidas sustentam essa teoria. Como exemplo, cita-se a importância da microbiota na manutenção de um pH adequado, o que contrapõe o efeito citotóxico direto causado pela redução do pH secundária a um excesso de sais biliares. Ainda, algumas bactérias putrefativas como *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens* estão envolvidas na produção de carcinógenos por meio do uso de enzimas como β -glucuronidase, azoredutase e nitroredutase. O uso de probióticos e prebióticos, então, poderia aumentar o número de outras espécies bacterianas, reduzindo competitivamente as bactérias putrefativas e sua consequente ação na carcinogênese.²⁰⁸⁻²¹⁰

Outros mecanismos associados à ação preventiva da microbiota seriam: aumento da degradação de carcinógenos, condicionado, por exemplo, por *Lactobacillus* e *Bifidobacillus*, aumento da produção de AGCC e imunomodulação. Estudos realizados *in vitro* postulam que AGCC possuem a capacidade de inibir o crescimento de células cancerígenas. Butirato, por exemplo, é um AGCC adquirido diretamente pela dieta ou através da metabolização e fermentação de outras substâncias, como as fibras. Condições como colite ou neoplasia, que afetam o metabolismo do butirato, levam ao seu acúmulo intracelular, este relacionado à morte celular. Nesse mesmo sentido, tem sido evidenciado sua capacidade de inibir a proliferação e promover a diferenciação e apoptose de células, inclusive de linhagem neoplásica. Os AGCC interagem com o sistema imune, influenciam na

produção intestinal de hormônios e lipogênese. Tais ações culminam no papel crucial de manutenção da integridade intestinal e explicam o sentido da forte correlação entre câncer colorretal e níveis diminuídos dessas substâncias.^{206, 207, 209}

Sabendo que a prevalência de determinadas bactérias tem relação direta com os hábitos alimentares, modificações dietéticas poderiam ter influência na prevenção e terapia do câncer. Jejum de forma intermitente, por exemplo, pode influenciar positivamente a microbiota, como aumento do gênero Firmicutes, ligado a maior produção de AGCC. Como dito, estes elementos são ligados à prevenção e tratamento do câncer, com evidência em modelos de ratos da redução comparativa da massa tumoral. A dieta mediterrânea, baseada no baixo consumo de ácidos graxos saturados e alto consumo de ácidos graxos mono ou poli-insaturados bem como, a dieta com menor teor de carboidratos são outros tipos associados a menor inflamação e maior produção de AGCC.^{207, 209, 211}

Dentre as diversas funções da microbiota do trato gastrointestinal, é descrito também a capacidade de modular a eficácia de medicações quimioterápicas. Determinadas cepas bacterianas, através de estudos em modelos experimentais em ratos, são capazes de atuar em sinergismo com os quimioterápicos. Por exemplo, no caso da ciclofosfamida, a presença de um grupo específico de bactérias gram positivas (bactérias filamentosas segmentadas, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus murinus* e *Enterococcus hirae*) é essencial em mediar o acúmulo de linfócitos T helper (Th) 17 e a resposta Th1, importantes na ação dessa medicação. Outros quimioterápicos como 5-fluoracil, iridotecano, oxaliplatina, gemcitabina e metrotrexate tem

também sua farmacocinética associada com a microbiota em estudos *in vitro*.

206, 208, 209

A manipulação da microbiota do trato gastrointestinal para otimização do tratamento contra o câncer pode ser alcançada por diversos métodos, sendo os mais estudados a utilização de probióticos, modificação de dieta e transplante fecal. As maiores evidências revelam que o principal desfecho da manipulação da microbiota é a redução da toxicidade de drogas quimioterápicas, sendo necessários novos estudos para demonstrar um real aumento da eficácia dos medicamentos antineoplásicos.^{207, 208, 210, 211}

No que tange a prevenção de complicações durante o uso de agentes quimioterápicos, diversos eventos podem ser evitados com a manipulação da microbiota. A suplementação de *Lactobacilli* pode reduzir a frequência de diarreia induzida por quimioterapia, com custo e posologia adequados, além de reduzir os episódios de dor abdominal e sintomas de mucosite aguda secundária à radioterapia e quimioterapia citotóxica. Em adição, modular a microbiota gastrointestinal pode prevenir a quebra da barreira epitelial com efeitos benéficos sobre a caquexia tumoral, infecções relacionadas à terapia antineoplásica e redução dos quadros de depressão nos pacientes que recebem associação de probióticos.^{207,209,210}

Desta forma, conclui-se que a microbiota exerce papel fundamental na homeostase do hospedeiro, e que sua alteração pode estar associada a doenças, como neoplasias, ou a piores respostas terapêuticas, como no uso de quimioterápicos. Entender os fatores que modificam a microbiota pode ser útil para melhorar medidas preventivas para essas patologias, e também para o surgimento de novas opções de tratamento no manejo clínico dessas doenças.

Doenças ginecológicas, atopia, depressão, ansiedade e autismo

Evidências se somam mostrando o potencial que determinadas cepas probióticas apresentam na prevenção e tratamento de várias afecções extra intestinais. Em ginecologia são vários os estudos que abordam a participação dos probióticos principalmente no tratamento da vaginose, candidíase vaginal e mesmo na prevenção de infecções do trato urinário.^{212, 213}

Em neurologia e psiquiatria, cada vez mais se observa a relação entre a microbiota intestinal e doenças como depressão, ansiedade e inclusive autismo. Cepas probióticas estão sendo desenvolvidas e estudadas especificamente para este fim, recebendo inclusive uma denominação especial, psicobióticos.^{3, 214-217}

Em doenças alérgicas também a progressão no conhecimento tem sido muito grande, com discussão inclusive envolvendo a suplementação de determinadas cepas, durante a gravidez com intuito de prevenir o desenvolvimento de atopia nas crianças, especialmente em filhos de pais e mães atópicos.²¹⁸⁻²²¹

Necessitamos também nestas três áreas uma maior quantidade de estudos bem conduzidos prospectivos, randomizados e placebo controlado, para que possamos identificar quais as cepas exatas a serem suplementadas em diferentes situações clínicas.

Análise Crítica do Uso de Pré-, Pós- e Simbióticos nas Doenças do Tubo Digestivo

Como visto anteriormente, a microbiota representa importante papel na manutenção de nossa saúde em todos os sentidos, sendo sua manipulação possível por vários mecanismos, um deles é representado pelos probióticos. É de suma importância que

seja mencionado novamente, que a ação destas “bactérias do bem” é dependente de uma série de fatores, passando pela cepa utilizada, sua quantidade, matriz pela qual é fornecida, temperatura, medicamentos dados em conjunto, doença de base, expressão dos TL envolvidos, idade, etc. A resposta é cepa específica e não necessariamente é aditiva com associação de mais cepas ou de prebióticos. Cepas dadas em conjunto, precisam ser estudadas também em conjunto para que possamos confirmar seu efeito probiótico.⁴⁹

Para chegarmos a uma cepa probiótica, são necessários inúmeros estudos iniciais, com intuito de caracteriza-la, analisar seu comportamento *in vitro*, posteriormente *in vivo* em cobaias e por fim em seres humanos. Estes estudos são essenciais para consigamos confirmar seu efeito clínico e principalmente sua segurança, especialmente quando fornecidos a crianças, grávidas e imunossuprimidos.⁴⁹

Para que um probiótico aja como tal, deve ser fornecido em quantidades adequadas, deve resistir a passagem pelo estômago (HCl e pepsina) e duodeno (sais biliares e enzimas pancreáticas), deve ser conservado e transportado em condições ideais de temperatura e pressão, além é claro de ter confirmado sua ação benéfica e principalmente sua segurança.^{1, 49, 222}

Os probióticos registrados em nosso País, apresentam perfil de segurança comprovado. Entretanto, não devem ser suplementados em pacientes com grave imunodeficiência ou em estado grave de saúde, como por exemplo indivíduos em estado de choque mantidos com drogas vasoativas.^{49, 210}

É importante que conheçamos o efeito imunomodulador de cada cepa, já que é possível incrementar determinado tipo de resposta imune que não seja desejado em determinada situação clínica. Probióticos que por exemplo estimulam respostas TH2 podem agravar doenças TH2 dependentes. Outra

preocupação com sua segurança seria a eventual transmissão de resistência antibiótica de cepas probióticas para bactérias comensais de nosso organismo. Embora isto seja possível, dentre os probióticos disponíveis em nosso meio, este fenômeno não tem sido observado.^{49, 210}

O ideal seria que pudéssemos fornecer determinado número de bactérias ou fungos, que pudessem colonizar nosso intestino de forma definitiva, porém isto não é possível. O efeito dos probióticos existe enquanto eles são suplementados, de tal modo que para doenças crônicas sua suplementação deve ser crônica e para afecções agudas, sua suplementação deve ser feita por tempo limitado.^{1, 31, 222}

Na grande maioria das situações clínicas em gastroenterologia não podemos ainda indicar uma cepa específica. Entretanto, em afecções como DA, SII, constipação e diarreias funcionais, prevenção e tratamento das diarreias associadas a antibióticos, existem evidências fortes que podem mostrar a ação benéfica dos probióticos. As cepas mais estudadas em cada uma destas situações foram mencionadas no texto acima.¹⁴⁹

Indicações outras bastante promissoras, como doenças psicomediadas, afecções genitourinárias, doenças alérgicas e reumatológicas e mesmo na prevenção de determinados tipos de cânceres, não foram escopo deste texto de maneira mais profunda, mas a colocação sobre probióticos nestas situações clínicas é a mesma feita sobre as doenças gastrointestinais.

Nossa posição está em fornecer ao clínico orientação sobre as cepas mais estudadas em cada situação clínica, com a ressalva que nem sempre as evidências são robustas para as cepas mencionadas. Ressaltamos ainda a noção que o efeito probiótico é cepa específico e que é possível interação entre

diferentes cepas dadas em conjunto. A manipulação de probióticos, em nossa opinião não proporciona garantias quanto a origem da cepa utilizada, estudos que comprovem que eventual associação de cepas não interfere na ação de cepas isoladas, entre outros fatores já mencionados anteriormente neste texto, não sendo portanto recomendada. É muito importante que as entidades universitárias e de pesquisa intensifiquem os estudos nesta área, para que possamos no futuro estabelecer indicações mais precisas para a suplementação probiótica e estabelecer cepas específicas para cada indicação clínica.

Referências

1. Davenport ER, Sanders JG, Song SJ, Amato KR, Clark AG, Knight R. The human microbiome in evolution. *BMC Biol.* 2017;15(1):127.
2. Akagawa S, Tsuji S, Onuma C, Akagawa Y, Yamaguchi T, Yamagishi M, et al. Effect of Delivery Mode and Nutrition on Gut Microbiota in Neonates. *Ann Nutr Metab.* 2019;74(2):132-9.
3. Dinan TG, Stanton C, Cryan JF. Psychobiotics: a novel class of psychotropic. *Biol Psychiatry.* 2013;74(10):720-6.
4. Vandenplas Y, Huys G, Daube G. Probiotics: an update. *J Pediatr (Rio J).* 2015;91(1):6-21.
5. Bode L, Jantscher-Krenn E. Structure-function relationships of human milk oligosaccharides. *Adv Nutr.* 2012;3(3):383S-91S.
6. Bode L. Human milk oligosaccharides: prebiotics and beyond. *Nutr Rev.* 2009;67 Suppl 2:S183-91.

7. Jantscher-Krenn E, Bode L. Human milk oligosaccharides and their potential benefits for the breast-fed neonate. *Minerva Pediatr.* 2012;64(1):83-99.
8. Bode L. The functional biology of human milk oligosaccharides. *Early Hum Dev.* 2015;91(11):619-22.
9. Mohajeri MH, Brummer RJM, Rastall RA, Weersma RK, Harmsen HJM, Faas M, et al. The role of the microbiome for human health: from basic science to clinical applications. *Eur J Nutr.* 2018;57(Suppl 1):1-14.
10. Butel MJ. Probiotics, gut microbiota and health. *Med Mal Infect.* 2014;44(1):1-8.
11. Butel MJ, Waligora-Dupriet AJ, Wydau-Dematteis S. The developing gut microbiota and its consequences for health. *J Dev Orig Health Dis.* 2018:1-8.
12. Schloissnig S, Arumugam M, Sunagawa S, Mitreva M, Tap J, Zhu A, et al. Genomic variation landscape of the human gut microbiome. *Nature.* 2013;493(7430):45-50.
13. Wammes LJ, Mpairwe H, Elliott AM, Yazdanbakhsh M. Helminth therapy or elimination: epidemiological, immunological, and clinical considerations. *Lancet Infect Dis.* 2014;14(11):1150-62.
14. Virgin HW. The virome in mammalian physiology and disease. *Cell.* 2014;157(1):142-50.
15. Consortium HMP. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* 2012;486(7402):207-14.
16. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.* 2006;7(7):688-93.
17. Dobson A, Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocin production: a probiotic trait? *Appl Environ Microbiol.* 2012;78(1):1-6.

18. Hammami R, Fernandez B, Lacroix C, Fliss I. Anti-infective properties of bacteriocins: an update. *Cell Mol Life Sci.* 2013;70(16):2947-67.
19. Brüssow H, Parkinson SJ. You are what you eat. *Nat Biotechnol.* 2014;32(3):243-5.
20. Indira M, Venkateswarulu TC, Abraham Peele K, Nazneen Bobby M, Krupanidhi S. Bioactive molecules of probiotic bacteria and their mechanism of action: a review. *3 Biotech.* 2019;9(8):306.
21. Oak SJ, Jha R. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2018:1-9.
22. Willing BP, Russell SL, Finlay BB. Shifting the balance: antibiotic effects on host-microbiota mutualism. *Nat Rev Microbiol.* 2011;9(4):233-43.
23. Piche T. Tight junctions and IBS--the link between epithelial permeability, low-grade inflammation, and symptom generation? *Neurogastroenterol Motil.* 2014;26(3):296-302.
24. Bercik P, Collins SM, Verdu EF. Microbes and the gut-brain axis. *Neurogastroenterol Motil.* 2012;24(5):405-13.
25. Khlevner J, Park Y, Margolis KG. Brain-Gut Axis: Clinical Implications. *Gastroenterol Clin North Am.* 2018;47(4):727-39.
26. Sharon G, Sampson TR, Geschwind DH, Mazmanian SK. The Central Nervous System and the Gut Microbiome. *Cell.* 2016;167(4):915-32.
27. Sampson TR, Mazmanian SK. Control of brain development, function, and behavior by the microbiome. *Cell Host Microbe.* 2015;17(5):565-76.
28. Clarke G, Stilling RM, Kennedy PJ, Stanton C, Cryan JF, Dinan TG. Minireview: gut microbiota: the neglected endocrine organ. *Mol Endocrinol.* 2014;28(8):1221-38.

29. Fukui H, Xu X, Miwa H. Role of Gut Microbiota-Gut Hormone Axis in the Pathophysiology of Functional Gastrointestinal Disorders. *J Neurogastroenterol Motil.* 2018;24(3):367-86.
30. Dongarrà ML, Rizzello V, Muccio L, Fries W, Cascio A, Bonaccorsi I, et al. Mucosal immunology and probiotics. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2013;13(1):19-26.
31. Yousefi B, Eslami M, Ghasemian A, Kokhaei P, Salek Farrokhi A, Darabi N. Probiotics importance and their immunomodulatory properties. *J Cell Physiol.* 2019;234(6):8008-18.
32. Peterson CT, Sharma V, Elmén L, Peterson SN. Immune homeostasis, dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota. *Clin Exp Immunol.* 2015;179(3):363-77.
33. Kolb R, Sutterwala FS, Zhang W. Obesity and cancer: inflammation bridges the two. *Curr Opin Pharmacol.* 2016;29:77-89.
34. Vaiserman AM, Koliada AK, Marotta F. Gut microbiota: A player in aging and a target for anti-aging intervention. *Ageing Res Rev.* 2017;35:36-45.
35. Anderson JW, Baird P, Davis RH, Ferreri S, Knudtson M, Koraym A, et al. Health benefits of dietary fiber. *Nutr Rev.* 2009;67(4):188-205.
36. Leonel AJ, Alvarez-Leite JI. Butyrate: implications for intestinal function. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2012;15(5):474-9.
37. Saad S. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2006;42(1):1-16.
38. Saad N, Delattre C, Urdaci M, Schmitter J, Bressollier p. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Science and Technology.* 2013;50(1):1-16.

39. Triantafyllou K, Chang C, Pimentel M. Methanogens, methane and gastrointestinal motility. *J Neurogastroenterol Motil.* 2014;20(1):31-40.
40. Juhas M. Horizontal gene transfer in human pathogens. *Crit Rev Microbiol.* 2015;41(1):101-8.
41. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature.* 2014;505(7484):559-63.
42. Bilski J, Mazur-Bialy A, Brzozowski B, Magierowski M, Zahradnik-Bilska J, Wójcik D, et al. Can exercise affect the course of inflammatory bowel disease? Experimental and clinical evidence. *Pharmacol Rep.* 2016;68(4):827-36.
43. O'Sullivan O, Cronin O, Clarke SF, Murphy EF, Molloy MG, Shanahan F, et al. Exercise and the microbiota. *Gut Microbes.* 2015;6(2):131-6.
44. Cook MD, Allen JM, Pence BD, Wallig MA, Gaskins HR, White BA, et al. Exercise and gut immune function: evidence of alterations in colon immune cell homeostasis and microbiome characteristics with exercise training. *Immunol Cell Biol.* 2016;94(2):158-63.
45. Ramai D, Zakhia K, Ofosu A, Ofori E, Reddy M. Fecal microbiota transplantation: donor relation, fresh or frozen, delivery methods, cost-effectiveness. *Ann Gastroenterol.* 2019;32(1):30-8.
46. Maier L, Pruteanu M, Kuhn M, Zeller G, Telzerow A, Anderson EE, et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature.* 2018;555(7698):623-8.
47. Blaser MJ. Antibiotic use and its consequences for the normal microbiome. *Science.* 2016;352(6285):544-5.

48. Cox LM, Blaser MJ. Antibiotics in early life and obesity. *Nat Rev Endocrinol.* 2015;11(3):182-90.
49. Sanders ME, Klaenhammer TR, Ouwehand AC, Pot B, Johansen E, Heimbach JT, et al. Effects of genetic, processing, or product formulation changes on efficacy and safety of probiotics. *Ann N Y Acad Sci.* 2014;1309(1):1-18.
50. Rodriguez J. Probióticos: del laboratorio al consumidor. *Nutr Hosp.* 2015;31(Supl. 1):33-47.
51. Petschow B, Doré J, Hibberd P, Dinan T, Reid G, Blaser M, et al. Probiotics, prebiotics, and the host microbiome: the science of translation. *Ann N Y Acad Sci.* 2013;1306:1-17.
52. Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *Int J Environ Res Public Health.* 2014;11(5):4745-67.
53. Platts-Mills TA. The allergy epidemics: 1870-2010. *The Journal of allergy and clinical immunology.* 2015;136(1):3-13.
54. Quercia S, Candela M, Giuliani C, Turrone S, Luiselli D, Rampelli S, et al. From lifetime to evolution: timescales of human gut microbiota adaptation. *Frontiers in microbiology.* 2014;5:587.
55. Wopereis H, Oozeer R, Knipping K, Belzer C, Knol J. The first thousand days - intestinal microbiology of early life: establishing a symbiosis. *Pediatric allergy and immunology : official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology.* 2014;25(5):428-38.
56. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nature reviews Immunology.* 2009;9(5):313-23.

57. Tanaka M, Nakayama J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergology international : official journal of the Japanese Society of Allergology*. 2017;66(4):515-22.
58. Rautava S, Ruuskanen O, Ouwehand A, Salminen S, Isolauri E. The hygiene hypothesis of atopic disease--an extended version. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2004;38(4):378-88.
59. Gordon JI, Dewey KG, Mills DA, Medzhitov RM. The human gut microbiota and undernutrition. *Science translational medicine*. 2012;4(137):137ps12.
60. Penders J, Gerhold K, Stobberingh EE, Thijs C, Zimmermann K, Lau S, et al. Establishment of the intestinal microbiota and its role for atopic dermatitis in early childhood. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2013;132(3):601-7 e8.
61. Holloway JW, Prescott SL. The Origins of Allergic Disease. In: O'Hehir RE, Holgate ST, Sheikh A, editors. *Middleton's Allergy Essentials*. 1 ed. New York: Elsevier; 2017. p. 29-50.
62. Simpson MR, Brede G, Johansen J, Johnsen R, Storro O, Saetrom P, et al. Human Breast Milk miRNA, Maternal Probiotic Supplementation and Atopic Dermatitis in Offspring. *PloS one*. 2015;10(12):e0143496.
63. Day CP, Saksena S. Non-alcoholic steatohepatitis: definitions and pathogenesis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2002;17 Suppl 3:S377-84.
64. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology*. 2006;43(2 Suppl 1):S99-S112.

65. Angelico F, Del Ben M, Conti R, Francioso S, Feole K, Fiorello S, et al. Insulin resistance, the metabolic syndrome, and nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(3):1578-82.
66. Youssef WI, McCullough AJ. Steatohepatitis in obese individuals. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2002;16(5):733-47.
67. Murphy EF, Cotter PD, Hogan A, O'Sullivan O, Joyce A, Fouhy F, et al. Divergent metabolic outcomes arising from targeted manipulation of the gut microbiota in diet-induced obesity. *Gut.* 2013;62(2):220-6.
68. Harrison SA, Torgerson S, Hayashi PH. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a clinical histopathological study. *Am J Gastroenterol.* 2003;98(9):2042-7.
69. Lewis JR, Mohanty SR. Nonalcoholic fatty liver disease: a review and update. *Dig Dis Sci.* 2010;55(3):560-78.
70. Loguercio C, De Simone T, Federico A, Terracciano F, Tuccillo C, Di Chicco M, et al. Gut-liver axis: a new point of attack to treat chronic liver damage? *Am J Gastroenterol.* 2002;97(8):2144-6.
71. Lakhani SV, Shah HN, Alexander K, Finelli FC, Kirkpatrick JR, Koch TR. Small intestinal bacterial overgrowth and thiamine deficiency after Roux-en-Y gastric bypass surgery in obese patients. *Nutr Res.* 2008;28(5):293-8.
72. Madrid AM, Poniachik J, Quera R, Defilippi C. Small intestinal clustered contractions and bacterial overgrowth: a frequent finding in obese patients. *Dig Dis Sci.* 2011;56(1):155-60.
73. Soares JB, Pimentel-Nunes P, Roncon-Albuquerque R, Leite-Moreira A. The role of lipopolysaccharide/toll-like receptor 4 signaling in chronic liver diseases. *Hepatol Int.* 2010;4(4):659-72.

74. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(44):15718-23.
75. Bäckhed F, Manchester JK, Semenkovich CF, Gordon JI. Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(3):979-84.
76. Miyake Y, Yamamoto K. Role of gut microbiota in liver diseases. *Hepatol Res*. 2013;43(2):139-46.
77. Gao B, Seki E, Brenner DA, Friedman S, Cohen JI, Nagy L, et al. Innate immunity in alcoholic liver disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2011;300(4):G516-25.
78. Mokhtari Z, Gibson DL, Hekmatdoost A. Nonalcoholic Fatty Liver Disease, the Gut Microbiome, and Diet. *Adv Nutr*. 2017;8(2):240-52.
79. Schnabl B, Brenner DA. Interactions between the intestinal microbiome and liver diseases. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1513-24.
80. Zhu L, Baker SS, Gill C, Liu W, Alkhoury R, Baker RD, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH. *Hepatology*. 2013;57(2):601-9.
81. Betrapally NS, Gillevet PM, Bajaj JS. Changes in the Intestinal Microbiome and Alcoholic and Nonalcoholic Liver Diseases: Causes or Effects? *Gastroenterology*. 2016;150(8):1745-55.e3.
82. Machado MV, Cortez-Pinto H. Diet, Microbiota, Obesity, and NAFLD: A Dangerous Quartet. *Int J Mol Sci*. 2016;17(4):481.

83. Boursier J, Mueller O, Barret M, Machado M, Fizanne L, Araujo-Perez F, et al. The severity of nonalcoholic fatty liver disease is associated with gut dysbiosis and shift in the metabolic function of the gut microbiota. *Hepatology*. 2016;63(3):764-75.
84. Henao-Mejia J, Elinav E, Thaïss CA, Licona-Limon P, Flavell RA. Role of the intestinal microbiome in liver disease. *J Autoimmun*. 2013;46:66-73.
85. Sreenivasa Baba C, Alexander G, Kalyani B, Pandey R, Rastogi S, Pandey A, et al. Effect of exercise and dietary modification on serum aminotransferase levels in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2006;21(1 Pt 1):191-8.
86. Margariti E, Deutsch M, Manolakopoulos S, Papatheodoridis GV. Non-alcoholic fatty liver disease may develop in individuals with normal body mass index. *Ann Gastroenterol*. 2012;25(1):45-51.
87. Volynets V, Küper MA, Strahl S, Maier IB, Spruss A, Wagnerberger S, et al. Nutrition, intestinal permeability, and blood ethanol levels are altered in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Dig Dis Sci*. 2012;57(7):1932-41.
88. Engstler AJ, Aumiller T, Degen C, Dürr M, Weiss E, Maier IB, et al. Insulin resistance alters hepatic ethanol metabolism: studies in mice and children with non-alcoholic fatty liver disease. *Gut*. 2016;65(9):1564-71.
89. Zhu L, Baker RD, Zhu R, Baker SS. Gut microbiota produce alcohol and contribute to NAFLD. *Gut*. 2016;65(7):1232.
90. Dumas ME, Barton RH, Toye A, Cloarec O, Blancher C, Rothwell A, et al. Metabolic profiling reveals a contribution of gut microbiota to fatty liver

phenotype in insulin-resistant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*.

2006;103(33):12511-6.

91. Duarte SMB, Stefano JT, Miele L, Ponziani FR, Souza-Basqueira M, Okada LSRR, et al. Gut microbiome composition in lean patients with NASH is associated with liver damage independent of caloric intake: A prospective pilot study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2018;28(4):369-84.

92. Ndugga N, Lightbourne TG, Javaherian K, Cabezas J, Verma N, Barritt ASt, et al. Disparities between research attention and burden in liver diseases: implications on uneven advances in pharmacological therapies in Europe and the USA. *BMJ open*. 2017;7(3):e013620.

93. Wree A, Marra F. The inflammasome in liver disease. *Journal of hepatology*. 2016;65(5):1055-6.

94. Milosevic I, Vujovic A, Barac A, Djelic M, Korac M, Radovanovic Spurnic A, et al. Gut-Liver Axis, Gut Microbiota, and Its Modulation in the Management of Liver Diseases: A Review of the Literature. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(2).

95. Sarin SK, Pande A, Schnabl B. Microbiome as a therapeutic target in alcohol-related liver disease. *Journal of hepatology*. 2019;70(2):260-72.

96. Buzzetti E, Kalafateli M, Thorburn D, Davidson BR, Thiele M, Gluud LL, et al. Pharmacological interventions for alcoholic liver disease (alcohol-related liver disease): an attempted network meta-analysis. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2017;3:CD011646.

97. Louvet A, Mathurin P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2015;12(4):231-42.

98. Schneider AC, Machado AB, de Assis AM, Hermes DM, Schaefer PG, Guizzo R, et al. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG on hepatic and serum lipid profiles in zebrafish exposed to ethanol. *Zebrafish*. 2014;11(4):371-8.
99. Schneider AC, Gregorio C, Uribe-Cruz C, Guizzo R, Malysz T, Faccioni-Heuser MC, et al. Chronic exposure to ethanol causes steatosis and inflammation in zebrafish liver. *World journal of hepatology*. 2017;9(8):418-26.
100. Bruch-Bertani JP, Uribe-Cruz C, Pasqualotto A, Longo L, Ayres R, Beskow CB, et al. Hepatoprotective Effect of Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG Through the Modulation of Gut Permeability and Inflammasomes in a Model of Alcoholic Liver Disease in Zebrafish. *Journal of the American College of Nutrition*. 2019:1-8.
101. Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. Liver cirrhosis. *Lancet*. 2014;383(9930):1749-61.
102. Moon AM, Singal AG, Tapper EB. Contemporary Epidemiology of Chronic Liver Disease and Cirrhosis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2019.
103. Riordan SM, McIver CJ, Wakefield D, Duncombe VM, Thomas MC, Bolin TD. Small intestinal mucosal immunity and morphometry in luminal overgrowth of indigenous gut flora. *The American journal of gastroenterology*. 2001;96(2):494-500.
104. Bures J, Cyrany J, Kohoutova D, Forstl M, Rejchrt S, Kvetina J, et al. Small intestinal bacterial overgrowth syndrome. *World journal of gastroenterology : WJG*. 2010;16(24):2978-90.

105. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334(6052):105-8.
106. Morgun A, Dzutsev A, Dong X, Greer RL, Sexton DJ, Ravel J, et al. Uncovering effects of antibiotics on the host and microbiota using transkingdom gene networks. *Gut*. 2015;64(11):1732-43.
107. Wiest R, Lawson M, Geuking M. Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *Journal of hepatology*. 2014;60(1):197-209.
108. Bauer TM, Steinbruckner B, Brinkmann FE, Ditzen AK, Schwacha H, Aponte JJ, et al. Small intestinal bacterial overgrowth in patients with cirrhosis: prevalence and relation with spontaneous bacterial peritonitis. *The American journal of gastroenterology*. 2001;96(10):2962-7.
109. Chang CS, Chen GH, Lien HC, Yeh HZ. Small intestine dysmotility and bacterial overgrowth in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology*. 1998;28(5):1187-90.
110. Teltschik Z, Wiest R, Beisner J, Nuding S, Hofmann C, Schoelmerich J, et al. Intestinal bacterial translocation in rats with cirrhosis is related to compromised Paneth cell antimicrobial host defense. *Hepatology*. 2012;55(4):1154-63.
111. Bajaj JS, Hylemon PB, Ridlon JM, Heuman DM, Daita K, White MB, et al. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2012;303(6):G675-85.

112. Chen Y, Yang F, Lu H, Wang B, Chen Y, Lei D, et al. Characterization of fecal microbial communities in patients with liver cirrhosis. *Hepatology*. 2011;54(2):562-72.
113. Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, White MB, Monteith P, et al. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *Journal of hepatology*. 2014;60(5):940-7.
114. Lin RS, Lee FY, Lee SD, Tsai YT, Lin HC, Lu RH, et al. Endotoxemia in patients with chronic liver diseases: relationship to severity of liver diseases, presence of esophageal varices, and hyperdynamic circulation. *Journal of hepatology*. 1995;22(2):165-72.
115. Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, et al. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature*. 2014;513(7516):59-64.
116. Krieger D, Krieger S, Jansen O, Gass P, Theilmann L, Lichtnecker H. Manganese and chronic hepatic encephalopathy. *Lancet*. 1995;346(8970):270-4.
117. Jalan R, Gines P, Olson JC, Mookerjee RP, Moreau R, Garcia-Tsao G, et al. Acute-on chronic liver failure. *Journal of hepatology*. 2012;57(6):1336-48.
118. Bajaj JS, O'Leary JG, Reddy KR, Wong F, Biggins SW, Patton H, et al. Survival in infection-related acute-on-chronic liver failure is defined by extrahepatic organ failures. *Hepatology*. 2014;60(1):250-6.
119. O'Leary JG, Reddy KR, Garcia-Tsao G, Biggins SW, Wong F, Fallon MB, et al. NACSELD acute-on-chronic liver failure (NACSELD-ACLF) score predicts 30-day survival in hospitalized patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2018.
120. Moreau R, Jalan R, Gines P, Pavesi M, Angeli P, Cordoba J, et al. Acute-on-chronic liver failure is a distinct syndrome that develops in patients with

acute decompensation of cirrhosis. *Gastroenterology*. 2013;144(7):1426-37, 37 e1-9.

121. Fischer J, Silva TE, Soares ESPE, Colombo BS, Silva MC, Wildner LM, et al. From stable disease to acute-on-chronic liver failure: Circulating cytokines are related to prognosis in different stages of cirrhosis. *Cytokine*. 2017;91:162-9.

122. Hensley MK, Deng JC. Acute on Chronic Liver Failure and Immune Dysfunction: A Mimic of Sepsis. *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2018;39(5):588-97.

123. Chen Y, Guo J, Qian G, Fang D, Shi D, Guo L, et al. Gut dysbiosis in acute-on-chronic liver failure and its predictive value for mortality. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2015;30(9):1429-37.

124. Bajaj JS, Vargas HE, Reddy KR, Lai JC, O'Leary JG, Tandon P, et al. Association Between Intestinal Microbiota Collected at Hospital Admission and Outcomes of Patients With Cirrhosis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2019;17(4):756-65 e3.

125. Liu Q, Duan ZP, Ha DK, Bengmark S, Kurtovic J, Riordan SM. Synbiotic modulation of gut flora: effect on minimal hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *Hepatology*. 2004;39(5):1441-9.

126. Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, Puri P, Sterling RK, et al. Randomised clinical trial: Lactobacillus GG modulates gut microbiome, metabolome and endotoxemia in patients with cirrhosis. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2014;39(10):1113-25.

127. Bajaj JS. The role of microbiota in hepatic encephalopathy. *Gut microbes*. 2014;5(3):397-403.
128. Koutnikova H, Genser B, Monteiro-Sepulveda M, Faurie JM, Rizkalla S, Schrezenmeir J, et al. Impact of bacterial probiotics on obesity, diabetes and non-alcoholic fatty liver disease related variables: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ open*. 2019;9(3):e017995.
129. Dalal R, McGee RG, Riordan SM, Webster AC. Probiotics for people with hepatic encephalopathy. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2017;2:CD008716.
130. Wahlstrom A. Outside the liver box: The gut microbiota as pivotal modulator of liver diseases. *Biochimica et biophysica acta Molecular basis of disease*. 2019;1865(5):912-9.
131. Schirbel A, Fiocchi C. Inflammatory bowel disease: Established and evolving considerations on its etiopathogenesis and therapy. *J Dig Dis*. 2010;11(5):266-76.
132. Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. *Gastroenterology*. 2014;146(6):1489-99.
133. Orel R, Kamhi Trop T. Intestinal microbiota, probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(33):11505-24.
134. Rolhion N, Carvalho FA, Darfeuille-Michaud A. OmpC and the sigma(E) regulatory pathway are involved in adhesion and invasion of the Crohn's disease-associated *Escherichia coli* strain LF82. *Mol Microbiol*. 2007;63(6):1684-700.

135. Hold GL, Smith M, Grange C, Watt ER, El-Omar EM, Mukhopadhyay I. Role of the gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: what have we learnt in the past 10 years? *World J Gastroenterol*. 2014;20(5):1192-210.
136. Torres J, Hu J, Seki A, Eisele C, Nair N, Huang R, et al. Infants born to mothers with IBD present with altered gut microbiome that transfers abnormalities of the adaptive immune system to germ-free mice. *Gut*. 2019.
137. Sun M, Wu W, Liu Z, Cong Y. Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases. *J Gastroenterol*. 2017;52(1):1-8.
138. Forbes A, Escher J, Hébuterne X, Kłęk S, Krznaric Z, Schneider S, et al. ESPEN guideline: Clinical nutrition in inflammatory bowel disease. *Clin Nutr*. 2017;36(2):321-47.
139. Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onishi C, et al. Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology*. 2015;149(1):102-9.e6.
140. Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, Walsh AJ, van den Bogaerde J, Samuel D, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2017;389(10075):1218-28.
141. Francino MP. Antibiotics and the Human Gut Microbiome: Dysbioses and Accumulation of Resistances. *Front Microbiol*. 2015;6:1543.

142. Agamennone V, Krul CAM, Rijkers G, Kort R. A practical guide for probiotics applied to the case of antibiotic-associated diarrhea in The Netherlands. *BMC Gastroenterol.* 2018;18(1):103.
143. Lessa FC, Mu Y, Bamberg WM, Beldavs ZG, Dumyati GK, Dunn JR, et al. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *N Engl J Med.* 2015;372(9):825-34.
144. Almeida R, Gerbaba T, Petrof EO. Recurrent *Clostridium difficile* infection and the microbiome. *J Gastroenterol.* 2016;51(1):1-10.
145. Zhang S, Palazuelos-Munoz S, Balsells EM, Nair H, Chit A, Kyaw MH. Cost of hospital management of *Clostridium difficile* infection in United States-a meta-analysis and modelling study. *BMC Infect Dis.* 2016;16(1):447.
146. Theriot CM, Young VB. Interactions Between the Gastrointestinal Microbiome and *Clostridium difficile*. *Annu Rev Microbiol.* 2015;69:445-61.
147. Mills JP, Rao K, Young VB. Probiotics for prevention of *Clostridium difficile* infection. *Curr Opin Gastroenterol.* 2018;34(1):3-10.
148. Evans CT, Johnson S. Prevention of *Clostridium difficile* Infection With Probiotics. *Clin Infect Dis.* 2015;60 Suppl 2:S122-8.
149. Koretz RL. Probiotics in Gastroenterology: How Pro Is the Evidence in Adults? *Am J Gastroenterol.* 2018;113(8):1125-36.
150. Goldenberg JZ, Yap C, Lytvyn L, Lo CK, Beardsley J, Mertz D, et al. Probiotics for the prevention of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;12:CD006095.
151. Enck P, Mazurak N. Dysbiosis in Functional Bowel Disorders. *Ann Nutr Metab.* 2018;72(4):296-306.

152. Yoon YK, Suh JW, Kang EJ, Kim JY. Efficacy and safety of fecal microbiota transplantation for decolonization of intestinal multidrug-resistant microorganism carriage: beyond. *Ann Med*. 2019;1-11.
153. Hungin AP, Mulligan C, Pot B, Whorwell P, Agréus L, Fracasso P, et al. Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms in clinical practice -- an evidence-based international guide. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013;38(8):864-86.
154. Dupont HL. Review article: evidence for the role of gut microbiota in irritable bowel syndrome and its potential influence on therapeutic targets. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;39(10):1033-42.
155. Lee BJ, Bak YT. Irritable bowel syndrome, gut microbiota and probiotics. *J Neurogastroenterol Motil*. 2011;17(3):252-66.
156. Dale HF, Rasmussen SH, Asiller Ö, Lied GA. Probiotics in Irritable Bowel Syndrome: An Up-to-Date Systematic Review. *Nutrients*. 2019;11(9).
157. Didari T, Mozaffari S, Nikfar S, Abdollahi M. Effectiveness of probiotics in irritable bowel syndrome: Updated systematic review with meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2015;21(10):3072-84.
158. Moayyedi P, Ford AC, Talley NJ, Cremonini F, Foxx-Orenstein AE, Brandt LJ, et al. The efficacy of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review. *Gut*. 2010;59(3):325-32.
159. Barbara G, Cremon C, Azpiroz F. Probiotics in irritable bowel syndrome: Where are we? *Neurogastroenterol Motil*. 2018;30(12):e13513.
160. Enck P, Aziz Q, Barbara G, Farmer AD, Fukudo S, Mayer EA, et al. Irritable bowel syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16014.

161. Hojsak I. Probiotics in Functional Gastrointestinal Disorders. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1125:121-37.
162. Camilleri M. Management Options for Irritable Bowel Syndrome. *Mayo Clin Proc.* 2018;93(12):1858-72.
163. Ford AC, Moayyedi P, Chey WD, Harris LA, Lacy BE, Saito YA, et al. American College of Gastroenterology Monograph on Management of Irritable Bowel Syndrome. *Am J Gastroenterol.* 2018;113(Suppl 2):1-18.
164. Guarner F, Sanders M, Eliakin R, Fedorak R, Gangl A, Garish J. Diretrizes Mundiais da Organização Mundial de Gastroenterologia: probióticos e prebióticos.
<http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-portuguese-20172017> [
165. Currò D, Ianiro G, Pecere S, Bibbò S, Cammarota G. Probiotics, fibre and herbal medicinal products for functional and inflammatory bowel disorders. *Br J Pharmacol.* 2017;174(11):1426-49.
166. Ford AC, Harris LA, Lacy BE, Quigley EMM, Moayyedi P. Systematic review with meta-analysis: the efficacy of prebiotics, probiotics, synbiotics and antibiotics in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther.* 2018;48(10):1044-60.
167. Ford AC, Quigley EM, Lacy BE, Lembo AJ, Saito YA, Schiller LR, et al. Efficacy of prebiotics, probiotics, and synbiotics in irritable bowel syndrome and chronic idiopathic constipation: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2014;109(10):1547-61; quiz 6, 62.
168. Camilleri M, Ford AC, Mawe GM, Dinning PG, Rao SS, Chey WD, et al. Chronic constipation. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17095.

169. Ohkusa T, Koido S, Nishikawa Y, Sato N. Gut Microbiota and Chronic Constipation: A Review and Update. *Front Med (Lausanne)*. 2019;6:19.
170. Huang L, Zhu Q, Qu X, Qin H. Microbial treatment in chronic constipation. *Sci China Life Sci*. 2018;61(7):744-52.
171. Alam NH, Ashraf H. Treatment of infectious diarrhea in children. *Paediatr Drugs*. 2003;5(3):151-65.
172. Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, Vecchio AL, Shamir R, Szajewska H. European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Paediatric Infectious Diseases Evidence-based Guidelines for the Management of Acute Gastroenteritis in Children in Europe: Update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014.
173. Barbuti R. Diarreias agudas. *Clinica e Terapêutica*.34(1).
174. Kosek M, Bern C, Guerrant RL. The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull World Health Organ*. 2003;81(3):197-204.
175. Verdu EF, Riddle MS. Chronic gastrointestinal consequences of acute infectious diarrhea: evolving concepts in epidemiology and pathogenesis. *Am J Gastroenterol*. 2012;107(7):981-9.
176. Franceschi F, Scaldaferri F, Riccioni ME, Casagrandia I, Forte E, Gerardi V, et al. Management of acute diarrhea: current and future trends. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18(14):2065-9.
177. Guarino A, Dupont C, Gorelov AV, Gottrand F, Lee JK, Lin Z, et al. The management of acute diarrhea in children in developed and developing areas: from evidence base to clinical practice. *Expert Opin Pharmacother*. 2012;13(1):17-26.

178. Lo Vecchio A, Buccigrossi V, Fedele MC, Guarino A. Acute Infectious Diarrhea. *Adv Exp Med Biol.* 2019;1125:109-20.
179. Gutierrez-Castrellon P, Lopez-Velazquez G, Diaz-Garcia L, Jimenez-Gutierrez C, Mancilla-Ramirez J, Estevez-Jimenez J, et al. Diarrhea in preschool children and *Lactobacillus reuteri*: a randomized controlled trial. *Pediatrics.* 2014;133(4):e904-9.
180. Graves NS. Acute gastroenteritis. *Prim Care.* 2013;40(3):727-41.
181. Brandt KG, Castro Antunes MM, Silva GA. Acute diarrhea: evidence-based management. *J Pediatr (Rio J).* 2015;91(6 Suppl 1):S36-43.
182. Farthing M, Salam M. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *World Gastroenterology Organization Global Guidelines.* 2012.
183. Barr W, Smith A. Acute diarrhea. *Am Fam Physician.* 2014;89(3):180-9.
184. Riddle MS, DuPont HL, Connor BA. ACG Clinical Guideline: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Acute Diarrheal Infections in Adults. *Am J Gastroenterol.* 2016;111(5):602-22.
185. Liu Y, Tran DQ, Fatheree NY, Marc Rhoads J. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 differentially modulates effector memory T cells and Foxp3+ regulatory T cells in a mouse model of necrotizing enterocolitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2014;307(2):G177-86.
186. Liu Y, Fatheree NY, Mangalat N, Rhoads JM. *Lactobacillus reuteri* strains reduce incidence and severity of experimental necrotizing enterocolitis via modulation of TLR4 and NF- κ B signaling in the intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2012;302(6):G608-17.
187. Ojetti V, Gigante G, Gabrielli M, Ainora ME, Mannocci A, Lauritano EC, et al. The effect of oral supplementation with *Lactobacillus reuteri* or tilactase in

- lactose intolerant patients: randomized trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2010;14(3):163-70.
188. Shornikova AV, Casas IA, Isolauri E, Mykkänen H, Vesikari T. Lactobacillus reuteri as a therapeutic agent in acute diarrhea in young children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1997;24(4):399-404.
189. Shornikova AV, Casas IA, Mykkänen H, Salo E, Vesikari T. Bacteriotherapy with Lactobacillus reuteri in rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16(12):1103-7.
190. Weizman Z, Asli G, Alsheikh A. Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics*. 2005;115(1):5-9.
191. Francavilla R, Lionetti E, Castellaneta S, Ciruzzi F, Indrio F, Masciale A, et al. Randomised clinical trial: Lactobacillus reuteri DSM 17938 vs. placebo in children with acute diarrhoea--a double-blind study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;36(4):363-9.
192. Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, Indrio F, Kolacek S, Shamir R, et al. Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: a position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;58(4):531-9.
193. Szajewska H, Urbańska M, Chmielewska A, Weizman Z, Shamir R. Meta-analysis: Lactobacillus reuteri strain DSM 17938 (and the original strain ATCC 55730) for treating acute gastroenteritis in children. *Benef Microbes*. 2014;5(3):285-93.
194. Capurso L. Thirty Years of Lactobacillus rhamnosus GG: A Review. *J Clin Gastroenterol*. 2019;53 Suppl 1:S1-S41.

195. Cruchet S, Furnes R, Maruy A, Hebel E, Palacios J, Medina F, et al. The Use of Probiotics in Pediatric Gastroenterology: A Review of the Literature and Recommendations by Latin-American Experts. *Paediatr Drugs*. 2015.
196. Feizizadeh S, Salehi-Abargouei A, Akbari V. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* for acute diarrhea. *Pediatrics*. 2014;134(1):e176-91.
197. Szajewska H, Skórka A, Dylag M. Meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* for treating acute diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;25(3):257-64.
198. Szajewska H, Skórka A, Ruszczyński M, Gieruszczak-Białek D. Meta-analysis: *Lactobacillus GG* for treating acute diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;25(8):871-81.
199. Shane AL, Mody RK, Crump JA, Tarr PI, Steiner TS, Kotloff K, et al. 2017 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea. *Clin Infect Dis*. 2017;65(12):e45-e80.
200. Coelho LGV, Marinho JR, Genta R, Ribeiro LT, Passos MDCF, Zaterka S, et al. IVTH BRAZILIAN CONSENSUS CONFERENCE ON HELICOBACTER PYLORI INFECTION. *Arq Gastroenterol*. 2018.
201. Graham DY, Dore MP. Update on the Use of Vonoprazan: A Competitive Acid Blocker. *Gastroenterology*. 2018;154(3):462-6.
202. Li M, Oshima T, Horikawa T, Tozawa K, Tomita T, Fukui H, et al. Systematic review with meta-analysis: Vonoprazan, a potent acid blocker, is superior to proton-pump inhibitors for eradication of clarithromycin-resistant strains of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*. 2018;23(4):e12495.

203. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, Gisbert JP, Kuipers EJ, Axon AT, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection-the Maastricht V/Florence Consensus Report. *Gut*. 2017;66(1):6-30.
204. Francavilla R, Polimeno L, Demichina A, Maurogiovanni G, Principi B, Scaccianoce G, et al. *Lactobacillus reuteri* strain combination In *Helicobacter pylori* infection: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Gastroenterol*. 2014;48(5):407-13.
205. Lü M, Yu S, Deng J, Yan Q, Yang C, Xia G, et al. Efficacy of Probiotic Supplementation Therapy for *Helicobacter pylori* Eradication: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *PLoS One*. 2016;11(10):e0163743.
206. Bhatt AP, Redinbo MR, Bultman SJ. The role of the microbiome in cancer development and therapy. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(4):326-44.
207. Joukar F, Mavaddati S, Mansour-Ghanaei F, Samadani AA. Gut Microbiota as a Positive Potential Therapeutic Factor in Carcinogenesis: an Overview of Microbiota-Targeted Therapy. *J Gastrointest Cancer*. 2019.
208. Górska A, Przystupski D, Niemczura MJ, Kulbacka J. Probiotic Bacteria: A Promising Tool in Cancer Prevention and Therapy. *Curr Microbiol*. 2019;76(8):939-49.
209. Pope JL, Tomkovich S, Yang Y, Jobin C. Microbiota as a mediator of cancer progression and therapy. *Transl Res*. 2017;179:139-54.
210. van den Nieuwboer M, Claassen E. Dealing with the remaining controversies of probiotic safety. *Benef Microbes*. 2019:1-12.
211. Klement RJ, Paziienza V. Impact of Different Types of Diet on Gut Microbiota Profiles and Cancer Prevention and Treatment. *Medicina (Kaunas)*. 2019;55(4).

212. Homayouni A, Bastani P, Ziyadi S, Mohammad-Alizadeh-Charandabi S, Ghalibaf M, Mortazavian AM, et al. Effects of probiotics on the recurrence of bacterial vaginosis: a review. *J Low Genit Tract Dis*. 2014;18(1):79-86.
213. Castro A, González M, Tarín JJ, Cano A. [Role of probiotics in Obstetrics and Gynecology]. *Nutr Hosp*. 2015;31 Suppl 1:26-30.
214. Sherwin E, Dinan TG, Cryan JF. Recent developments in understanding the role of the gut microbiota in brain health and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2017.
215. Sarkar A, Lehto SM, Harty S, Dinan TG, Cryan JF, Burnet PW. Psychobiotics and the Manipulation of Bacteria-Gut-Brain Signals. *Trends Neurosci*. 2016;39(11):763-81.
216. Dinan TG, Cryan JF. Melancholic microbes: a link between gut microbiota and depression? *Neurogastroenterol Motil*. 2013;25(9):713-9.
217. Oleskin AV, Shenderov BA. Probiotics and Psychobiotics: the Role of Microbial Neurochemicals. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2019.
218. Fiocchi A, Pawankar R, Cuello-Garcia C, Ahn K, Al-Hammadi S, Agarwal A, et al. World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): Probiotics. *World Allergy Organ J*. 2015;8(1):4.
219. Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2001;357(9262):1076-9.
220. Abrahamsson TR, Jakobsson T, Böttcher MF, Fredrikson M, Jenmalm MC, Björkstén B, et al. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2007;119(5):1174-80.

221. Forsberg A, West CE, Prescott SL, Jenmalm MC. Pre- and probiotics for allergy prevention: time to revisit recommendations? *Clin Exp Allergy*.

2016;46(12):1506-21.

222. Sanders ME. Impact of probiotics on colonizing microbiota of the gut. *J*

Clin Gastroenterol. 2011;45 Suppl:S115-9.

Figura 1. Disbiose intestinal induzida pelo álcool. PAMPS= padrões moleculares associados a patógenos.

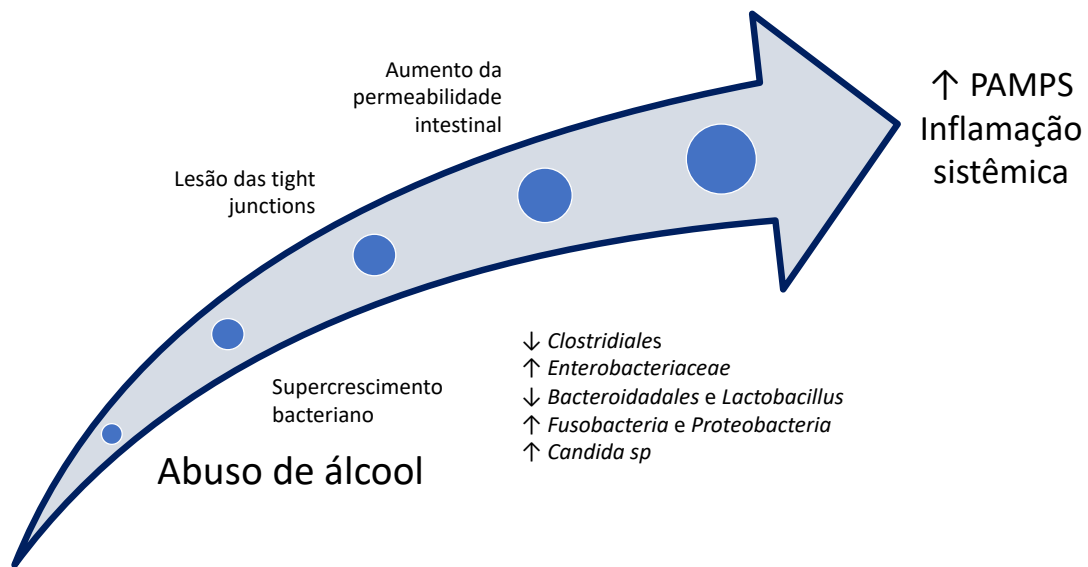


Figura 2. Artigos publicados sobre microbiota na doença hepática (PubMed, maio de 2019).

Doenças hepáticas (n=771)	Obesidade (n=880)	Esteatose hepática (n=337)	Hepatites (n=66)
Encefalopatia hepática (n=143)	DM2 (n=961)	Cirrose (n=333)	Doença hepática alcoólica (n=93)

Figura 3. Passos usados na revisão sistemática.

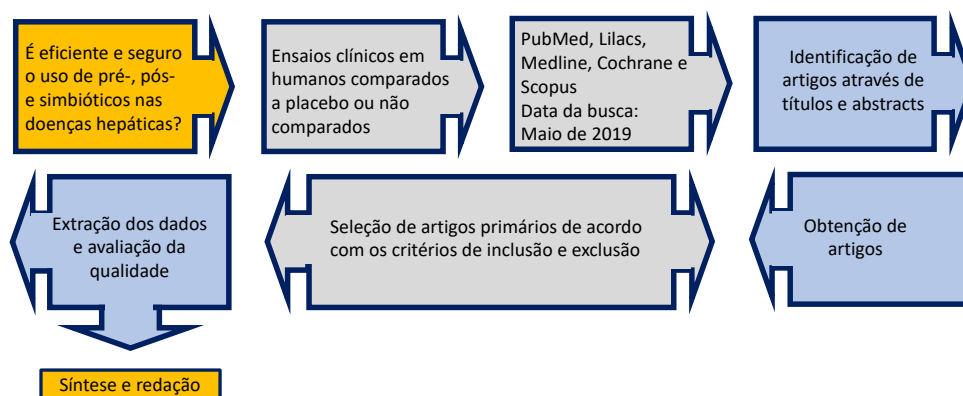


Figura 4. Resultado da busca em bases de dados. ECR= ensaio clínico randomizado. “Outras doenças” incluem diabetes mellitus, cirurgia bariátrica, síndrome do intestino irritável, carcinoma colorretal, alergia à proteína do leite, entre outras, sem desfechos hepáticos. “Outros” incluem estudos com outras drogas que não as de interesse (n=8), estudos *in vitro* (n=7), relatos de caso (n=4), artigos completos em língua não-inglesa, francesa ou espanhola (n=7), entre outros.

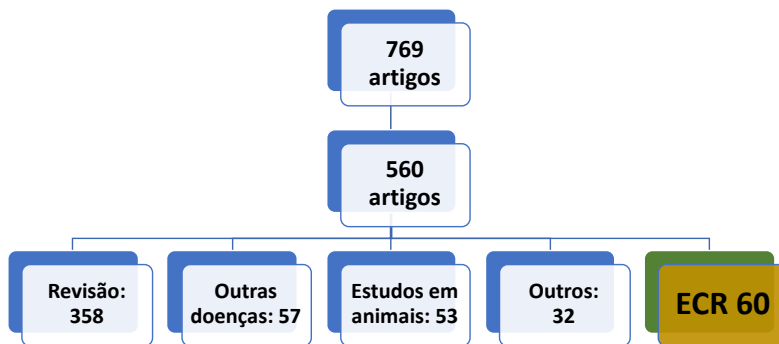
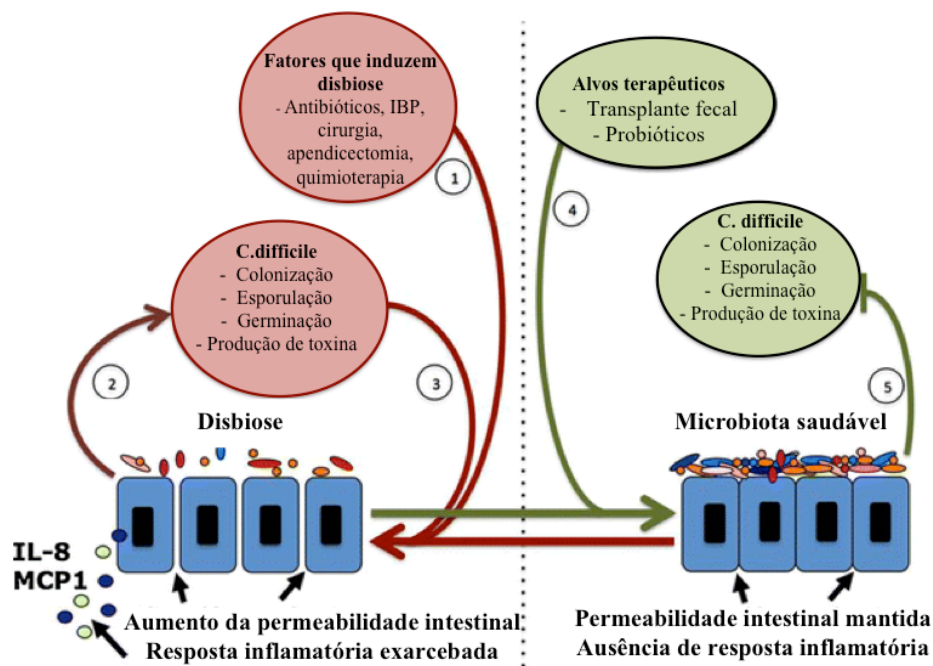
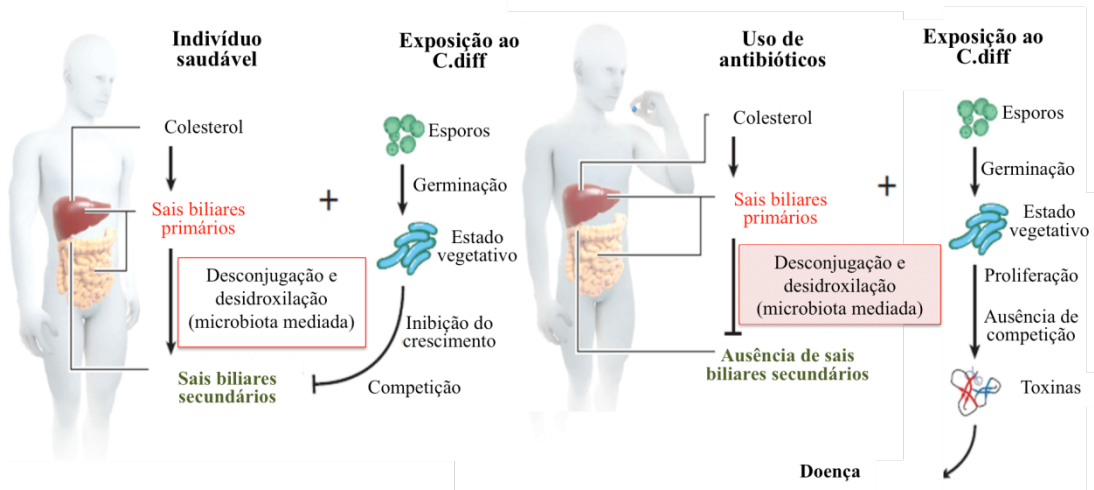


Figura 5. Disbiose e aumento da permeabilidade intestinal



Adaptado de Almeida R. J Gastroenterol. 2016 Jan;51(1):1-10.

Figura 6. Metabolismo dos ácidos biliares na infecção por *Clostridioides difficile*



Adaptado de Theriot, C. et al. Annu Rev Microbiol. 2015; 69: 445–461(146).

Tabela 1. Definição de ACLF conforme proposto pelo consórcio EASL-CLIF e seu impacto prognóstico

	Critério	Mortalidad e 28 dias	Mortalidade 90 dias
IHCA Ausente	Qualquer das seguintes situações: (1) Ausência falência órgãos (2) Falência de um órgão (não-rim) com Cr < 1,5 mg/dL e sem encefalopatia (3) Falência cerebral isolada (com Cr < 1,5 mg/dL)	4,7%	14,0%
IHCA grau 1	Qualquer das seguintes situações: (1) Falência renal isolada (2) Falência hepática, coagulação, circulação ou respiratória com Cr 1,5 mg/dL e 1,9 mg/dL e/ou encefalopatia leve/moderada; (3) Falência cerebral com Cr 1,5 mg/dL e 1,9 mg/dL	22,1%	40,4%
IHCA grau 2	Falência de 2 órgãos	32,0%	52,3%
IHCA grau 3	Falência de 3 ou mais órgãos	76,7%	79,0%

Fonte: adaptada de Jalan et al., 2014

Critérios para falências orgânicas: Hepática: bilirrubina $\geq 12,0$ mg/dL; Renal: creatinina $\geq 2,0$ mg/dL; Cerebral: encefalopatia graus 3 ou 4; Coagulação: RNI

≥ 2,5; Circulatória: uso de vasopressores; Respiratória: relação PaO₂/FiO₂ ≤200 ou relação SaO₂/FiO₂ ≤214 ou ventilação mecânica (exceto por coma hepático)

Tabela 2. Ensaios clínicos randomizados com intervenção na microbiota em hepatopatias.

Autor, ano	n	Droga	PLA	Doença	Desfecho	Resultado	NCT
Bajaj, 2014	30	LGG 8 sem	Sim	Cirrose - EHM	Segurança, inflamação sistêmica, microbiota	Positivo	Sim
Alisi, 2014	48	VSL#3 4m	Sim	DHGNA crianças	Esteatose por US	Positivo	Sim
Lunia, 2014	160	VSL#3	Não	Cirrose - EH	EH clínica	Positivo	Sim
Dhiman, 2014	130	VSL#3 6m	Não	Cirrose - EHM	EH clínica	Negativo	Sim
Nabari, 2014	72	logurte	Não	DHGNA	Síndrome metabólica, aminotransferases	Positivo	Não
Sharma, 2014	124	Probs	Sim	Cirrose - EHM	Melhora da EHM	Positivo	Sim
Rincón, 2014	17	VSL#3 6m	Sim	Cirrose - ascite	Disfunção circulatória	Positivo	Não
Horvath, 2016	80	VSL#3	Sim	Cirrose	Imun. inata, permeab intest, translocação	Positivo	Sim
Sepideh, 2016	42	Probs 8 sem	Sim	DHGNA	Controlo glicêmico e inflamação	Positivo	Não
Famouri, 2017	64	Probs 12sem	Sim	DHGNA pediatria	Esteatose, aminotransferases	Positivo	Não
Xia, 2018	67	Probs	Não	Cirrose - EHM	Melhora EHM, microbiota	Positivo	Não
Kobyliak, 2018	58	Probs 8 sem	Sim	DHGNA	FLI e Fibroscan	Positivo	Sim
Jones, 2018	19	VSL#3 16 sem	Sim	DHGNA adol latinos	Microbiota, hormônios intestinais	Negativo	Sim
Bakhsim., 2018	102	logurte	Não	DHGNA	Esteatose, aminotransferases	Positivo	Sim

LGG= *Lactobacillus rhamnosus* GG; EHM= encefalopatia hepática mínima;
 US= ultrassonografia; VSL#3 = *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. bulgaricus*, *Bifidobacterium brevis*, *B. longum*, *B. infantis*, *Streptococcus thermophilus* 1x10⁹UFC .