

Microbioma intestinal pós colectomia: que consequências?

Daniela Sofia Dos Santos Crespo Abrantes

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Medicina
(mestrado integrado)

Orientador: Doutor Eduardo João Abrantes Pereira

março de 2022

Dedicatória

À minha mãe.

Agradecimentos

À Universidade da Beira Interior e Faculdade de Ciências da Saúde, pela formação durante estes 6 anos.

Ao meu orientador, Dr. Eduardo, pela aprendizagem, pelo exemplo, disponibilidade, prontidão, conselhos, orientação e apoio no desenvolvimento da dissertação. Obrigada por me ter transmitido a principal razão da existência da Medicina, a de saber cuidar.

À minha família, mãe, pai, irmão e avó, pelo apoio incondicional e por me darem todas as oportunidades para concluir com sucesso mais uma etapa.

À Alexandra, pela paciência e por estar sempre presente.

À Nini, pela presença e companhia.

À minha família da Covilhã, por traçarem este caminho comigo e por tornarem esta caminhada bem mais fácil.

Microbioma intestinal pós colectomia: que consequências?

“All disease begins in the gut.” –Hippocrates of Kos

Resumo

Introdução: Os microrganismos habitam o planeta Terra há 3.5 bilhões de anos, há muito menos tempo os próprios humanos, tornando-se a coevolução entre ambos essencial para a existência de vida. O intestino humano é o habitat de um ecossistema microbiano diverso e dinâmico, onde o microbioma intestinal tem um papel fundamental na função imunitária, no metabolismo, na digestão e na comunicação intestino-cérebro. A compreensão das modificações do microbioma após ressecção do cólon, reconhecendo as alterações e complicações que possam surgir, é uma oportunidade para novas abordagens preventivas e terapêuticas.

Objetivos: Pretende-se entender o papel do microbioma após colectomia, identificar alterações na sua composição e possíveis complicações decorrentes da disbiose causada pela cirurgia, assim como perceber a capacidade de alguns agentes modificadores da microbiota restaurarem esse desequilíbrio iatrogénico.

Metodologia: Para a elaboração desta revisão de literatura, foi realizada uma pesquisa bibliográfica na base de dados eletrónica *Pubmed*. No sentido de complementar esta revisão, recorreu-se também a diretrizes da *World Gastroenterology Organisation*. A pesquisa foi efetuada entre agosto de 2020 e dezembro de 2021 e foram selecionados artigos escritos em língua inglesa e portuguesa.

Resultados: Apesar da extensa investigação sobre o papel do microbioma na saúde dos indivíduos, pouco se sabe acerca do que acontece à tão importante microbiota após ressecção cirúrgica do cólon. As bactérias pertencentes aos filos Firmicutes e Bacteroidetes são predominantes num indivíduo “saudável”. Após a colectomia, identifica-se uma menor interação ecológica, existindo uma diminuição de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* e, por outro lado, um aumento de bactérias patogénicas, contribuindo estas alterações para a desregulação da homeostasia intestinal. Estas modificações não parecem ser irrelevantes, dada a possibilidade de existir uma relação entre a disrupção do microbioma intestinal e o desenvolvimento de complicações, tanto a curto como longo prazo, com um maior risco de complicações pós-cirúrgicas, de síndrome metabólico e de recidiva de cancro colorretal.

Conclusão: A disbiose do microbioma intestinal está relacionada com várias doenças humanas, que se manifestam de forma sistémica e não apenas no intestino. Embora com incertezas relativamente às consequências da colectomia no ecossistema intestinal, tudo indica que este procedimento não lhe é indiferente. Uma melhor compreensão desta

relação poderá ter um papel muito relevante na abordagem destes doentes, dada a possibilidade de utilizar terapêuticas com capacidade de modular o microbioma.

Palavras-chave

Microbioma;microbiota intestinal;colectomia;complicações;modulação

Abstract

Introduction: Microorganisms have lived on Earth for the last 3.5 billion years, much less than the humankind itself, and the coevolution between both has become essential for life. The human intestine is the habitat for a diverse and dynamic microbial ecosystem, where the microbiome intestine performs a significant role in the immune function, in metabolism, in digestion, and in the connection between the intestine and the brain. Learning the microbiome mutations after a colon resection, acknowledging the changes and complications that might happen, is an opportunity to introduce preventing approaches and new therapeutics.

Objective: The aim of this literature review is to understand microbiome's role after a colectomy, to identify mutations in its composition, and possible complications resulting from the dysbiosis caused by surgery, as well as, to understand the capacity of some microbiota's modifiers agents of restoring the iatrogenic imbalance.

Methodology: In order to prepare for this literature review, a bibliographic research has been made using Pubmed electronic data base. For the purpose of completing this review, books and guidelines from the World Gastroenterology Organisation have been read. The research has been made between august 2020 and december 2021 and the selected articles are written in english and portuguese.

Results: Despite of the extensive investigation about the microbiome role in the human health, little is known about what happens to the important microbiota after a colon's surgery resection. The bacteria belonging to the Firmicutes phyla and Bacteroidetes are predominant in a "healthy" individual. After the colectomy, a smaller ecologic interaction is identified, occurring a decrease of *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* but also an increase of pathogenic bacteria, contributing to the intestinal homeostasis deregulation. Such modifications aren't irrelevant because of the possible relation between the intestine microbiome and the complication development, both in the short and long term, with significant risk of post-surgical complications from metabolic syndrome and colorectal cancer recurrence.

Conclusion: The intestine microbiome's dysbiosis is related to various human diseases which manifest systematically and not just in the intestine. Although there are uncertainties about the colectomy consequences in the intestine ecosystem, research suggests that this procedure is not indifferent to it. A better knowledge of this relationship

could be truly relevant to the patient's approach, as it could allow the use of therapeutics with capacity to adjust the microbiome.

Keywords

Microbiome;gut microbiota;colectomy;complications;modulation

Índice

Dedicatória	iii
Agradecimentos	v
Resumo	ix
Palavras-chave	ix
Abstract	x
Keywords	xii
Lista de Figuras	xv
Lista de Tabelas	xvii
Lista de Acrónimos	xix
1. Introdução	1
2. Metodologia	3
3. O reconhecimento do microbioma humano como um novo “órgão”	5
3.1. A biologia evolutiva e a adaptabilidade dos microrganismos	5
3.2. A transformação do microbioma ancestral	8
3.3. A composição e a função do microbioma	11
3.4. Microbioma intestinal: um sistema interativo integrado	15
3.4.1. A barreira intestinal e a sua permeabilidade	15
3.4.2. O nervo vago	16
3.4.3. Os metabolitos bacterianos e neurotransmissores	16
3.5. A contribuição do microbioma para os processos patológicos	17
4. Modificações no microbioma após colectomia	19
4.1. Alterações na composição da microbiota intestinal	19
4.2. Fatores que contribuem para a modificação do ambiente microbiano	20
4.2.1. Efeito da preparação intestinal mecânica	22
4.2.2. Antibioterapia perioperatória	22
5. Complicações a curto e longo prazo após colectomia	25
5.1 Complicações a curto prazo por alteração do ecossistema microbiano	26
5.1.1. Ileus pós-operatório	26
5.1.2. Aderências pós-cirúrgicas	26
5.1.3. Infecções do local cirúrgico	26
5.1.4. Deiscência da anastomose	27
5.2 Complicações a longo prazo por alteração do ecossistema microbiano	28
5.2.1. Modificações metabólicas	28
5.2.2. Risco de doença cardiovascular	30

5.2.3. Risco de recidiva do carcinoma colorretal	31
5.2.4. Sobrecrecimento bacteriano e fúngico no intestino delgado	33
7. Conclusão	39
7.1. Perspetivas futuras	40
8. Bibliografia	43

Lista de Figuras

Figura 1. O mais recente modelo holobiontico humano	7
Figura 2- Distribuição do número de células e respetiva massa no corpo humano	12
Figura 3- Taxonomia microbiana intestinal	13
Figura 4- Patologias associadas à disrupção do microbioma	18
Figura 5- Mecanismo ilustrativo da influência do microbioma em resposta ao trauma cirúrgico	21
Figura 6- Mecanismo de inibição neoplásica promovido pelos SCFAs	37

Lista de Tabelas

Tabela 1- Fatores com capacidade de modificar o microbioma	21
Tabela 2- Composição da microbiota intestinal em indivíduos saudáveis e em pacientes com neoplasia colorretal antes e após cirurgia	32
Tabela 3- Resultados dos principais estudos sobre alterações metabólicas e respetivo risco de doença cardiovascular após colectomia	34

Lista de Acrónimos

2BAs	Ácidos biliares secundários
5-HT	Serotonina
AL	Deiscência da anastomose
AVC	Acidente vascular cerebral
CCR	Cancro colorretal
CV	Cardiovascular
DII	Doença inflamatória intestinal
DMH	1,2-dimetil-hidrazina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECCs	Células enterocromafins
EECs	Células enteroendócrinas
ERAS	<i>Enhanced recovery after surgery</i>
ETBF	<i>Enterotoxigenic Bacteroides fragilis</i>
GLP-1	Peptídeo semelhante ao glucagon 1
HPA	Eixo hipotálamo-hipófise-supra-renal
IBP	Inibidor da bomba de prótons
IL-17	Interleucina 17
LAR	Ressecção anterior baixa
LH	Hemicolectomia esquerda
LPS	Lipopolissacarídeo
MALT	Tecido linfóide associado à mucosa
MBP	Preparação intestinal mecânica
MetaHIT	<i>Metagenomics of the Human Intestinal Tract</i>
MMP-2	Metaloproteinase de matriz do tipo 2
MMP-9	Metaloproteinase de matriz do tipo 9
NGS	<i>Next-generation sequencing</i>
PEG	Polietilenoglicol
POI	Ileus pós-operatório
RH	Hemicolectomia direita
RNA	Ácido ribonucleico
rRNA	Ácido ribonucleico ribossômico
SCFAs	Ácidos gordos de cadeia curta
SIBO	Síndrome sobrecrecimento bacteriano no intestino delgado

SIFO	Síndrome sobrecrecimento fúngico no intestino delgado
SIRS	Síndrome resposta sistémica à inflamação
SNA	Sistema nervoso autónomo
SNC	Sistema nervoso central
SNE	Sistema nervoso entérico
SSIs	Infeções do local cirúrgico
TGI	Trato gastrointestinal
Th17	Linfócitos T auxiliares 17
TLR	<i>Toll-like receptors</i>
TMF	Transplante microbiota fecal
Treg	Linfócitos T reguladores
WGO	<i>World Gastroenterology Organisation</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

1. Introdução

O intestino humano é o habitat de um ecossistema microbiano diverso e dinâmico.(1) Nas últimas décadas surgiu um novo conceito, o de “supra-organismo”, fundamental para a compreensão da saúde e doença do hospedeiro.(1) Da mesma forma que os mamíferos nunca existiram sem os microrganismos, também o cérebro não existiu sem os sinais provenientes do intestino, sendo bastante importante, do ponto de visto evolutivo, a relação simbiótica entre o hospedeiro e a sua microbiota.(2) A relação entre o intestino e o cérebro começa ainda *in útero*, uma vez que o sistema nervoso central (SNC) e o sistema nervoso entérico (SNE) têm uma origem embrionária comum, existindo, portanto, uma comunicação bem estabelecida.(3,4)

A microbiota humana é composta por 100 triliões de microrganismos que habitam no interior e à superfície do corpo humano.(2,5) O microbioma intestinal exerce um papel fundamental na função imunitária, no metabolismo, na digestão e na comunicação intestino-cérebro, sendo um regulador chave da fisiologia do hospedeiro e um determinante crítico da sua saúde.(1,6) Desta forma, alterações que provoquem instabilidade do microbioma e da sua diversidade, mais comumente conhecidas como disbiose, estão relacionadas com o desenvolvimento de doenças gastrointestinais e metabólicas.(1,6)

A investigação nesta área tem sido avassaladora, principalmente nos últimos anos.(7) Neste sentido, apesar da extensa investigação sobre o papel do microbioma na saúde dos indivíduos, pouco se sabe acerca do que acontece à tão importante microbiota após ressecção cirúrgica do cólon, uma vez que é retirado o principal habitat onde esta se encontra.(7,8) Enquanto o genoma humano é estável ao longo da vida, o microbioma é diverso, dinâmico e responsivo a estímulos externos, tornando-o um alvo interessante a nível terapêutico.(8–10) Com um melhor conhecimento da interação entre estes dois sistemas e a potencial capacidade de modular o microbioma, a ciência avança de forma promissora para potenciar uma medicina preditiva e curativa, com capacidade interventiva adequada às doenças do século XXI.(11)

1.1. Objetivos

Face à necessidade de melhor entender o papel do microbioma após a ressecção do cólon surgiu esta revisão bibliográfica, na medida em que reconhecer a influencia das suas modificações nas complicações pós-cirúrgicas no organismo humano, é sem dúvida, uma nova oportunidade para novas abordagens preventivas e terapêuticas.

Desta forma, esta dissertação tem os seguintes objetivos:

- Compreender o papel do microbioma no hospedeiro humano, nomeadamente acerca da sua influência nos processos metabólicos.
- Analisar as modificações na composição do microbioma após ressecção cirúrgica do cólon.
- Identificar possíveis complicações a curto e longo prazo decorrentes da disbiose causada pela cirurgia.
- Propor o uso de agentes com capacidade modificadora do microbioma na restauração do equilíbrio bacteriano, causado pela colectomia.

2. Metodologia

Para a elaboração desta dissertação, procedeu-se a uma revisão da literatura sobre o papel do microbioma após colectomia, nomeadamente acerca das complicações e agentes modificadores, através da base de dados eletrónica *PubMed*, utilizando a combinação dos seguintes termos: “*gut microbiome*”, “*long term complications*”, “*colectomy*”, “*surgical complications*”, “*dysbiosis*” e “*probiotics*”.

A pesquisa foi efetuada entre agosto de 2020 e dezembro de 2021 e foram selecionados os artigos escritos em língua inglesa e portuguesa. Não houve restrição temporal na pesquisa efetuada, no entanto, foi dada preferência a artigos de publicação mais recente. Desta forma, os artigos utilizados na realização desta revisão datam de 2011 a 2021. Adicionalmente, também foram incluídos outros trabalhos citados pelos artigos identificados na pesquisa original, de acordo com a sua relevância.

No sentido de completar a informação recolhida, recorreu-se ainda a diretrizes da *World Gastroenterology Organisation* (WGO) e a publicações da *World Health Organization* (WHO).

Microbioma intestinal pós colectomia: que consequências?

3. O reconhecimento do microbioma humano como um novo “órgão”

3.1. A biologia evolutiva e a adaptabilidade dos microrganismos

O ser humano vive num mundo repleto de interações microbianas.(2) Os microrganismos habitam o planeta Terra há 3.5 bilhões de anos, há mais tempo que os próprios humanos, tornando-se a coevolução entre ambos essencial para a existência de vida na Terra.(2) O intestino é o habitat de um ecossistema microbiano dinâmico e diverso, tendo surgido recentemente o termo de “supra-organismo”.(1) O termo microbioma inclui as comunidades de bactérias, fungos, arqueias, algas e pequenos protistas e é atualmente considerado pela comunidade científica como o mais recente “órgão” a ser reconhecido.(12)

Depois de emergirem como os primeiros habitantes do nosso planeta, os microrganismos rapidamente se espalharam por todas as regiões do globo.(2) Arqueia, do grego “coisas antigas”, terão sido dos primeiros organismos a habitar o “planeta azul”.(11) Dadas as rápidas e contínuas alterações climáticas e atmosféricas que ocorreram no passado, a capacidade adaptativa destes microrganismos exigiu uma enorme flexibilidade genética.(11) Para melhor apreciar as consequências desta coadaptação evolutiva, é necessário entender o caminho evolutivo da relação simbiótica entre os humanos e o microbioma.(11,12)

Na verdade, o surgimento de grandes inovações tecnológicas, como o aparecimento dos primeiros microscópios, permitiu uma mudança de paradigma no conhecimento científico, contribuindo para a identificação de microrganismos que até então eram desconhecidos.(12) O conceito de patogenicidade, desenvolvido por *Robert Koch*, como consequência de uma infecção microbiana, tornou-se um marco importante na área da microbiologia.(12) No entanto, a ciência tem demonstrado no último século, que apenas uma pequena proporção de microrganismos, são capazes de provocar efetivamente doença.(12)

O conceito de coevolução representa as adaptações recíprocas que ocorrem pela interação entre os vários elementos do ecossistema terrestre, neste caso em particular entre o microbioma e o seu hospedeiro.(12) Na cadeia evolutiva, as bactérias que são procariontes unicelulares, precedem o aparecimento dos eucariontes, que são seres multicelulares e que incluem os fungos, as plantas e os animais.(11,12) O caminho evolutivo que deu origem aos eucariotas é definido como anagénesse, que é um processo gradual em que as espécies vão

acumulando alterações genéticas adaptativas.(11) O aparecimento dos oceanos e do oxigénio na atmosfera, permitiu uma relação de simbiose entre os microrganismos anaeróbios e outros seres unicelulares, sendo esta a provável origem das mitocôndrias.(11) Este fenómeno, é o exemplo de como uma relação endossimbiótica com mútuos benefícios, pode permitir uma vantagem evolutiva para ambas as partes.(11,12) No que respeita à evolução dos seres unicelulares para pluricelulares, esta é bastante mais complexa. Pensa-se que o verme *Caenorhabditis elegans* seja uma forma de transição entre a unicelularidade e a multicelularidade, pelo que até mesmo um ser pluricelular rudimentar está dependente de uma relação de simbiose para otimizar as funções energéticas e reprodutivas.(11)

Assim, até mesmo numa fase precoce do desenvolvimento da vida na Terra, a interação de capacidades individuais, permitiu um aumento de vantagem para ambas as partes, o que é, ainda hoje, uma realidade no ecossistema terrestre.(11,12) Este complexo ecossistema é considerado como um ciclo de vida contínuo, em que ocorre uma troca constante de microrganismos entre o solo, a água, o ar e os humanos, pelo que independentemente da espécie, não existe vida pluricelular na Terra sem que tenha ocorrido uma coevolução entre vários microrganismos.(11) De facto, da mesma forma, o intestino não poderia funcionar adequadamente se não tivesse sido inicialmente colonizado pelas bactérias.(11)

Os termos microbiota e microbioma são muitas vezes usados de forma indistinta para descrever estes microrganismos, no entanto, o microbioma é definido como a comunidade de microrganismos comensais, simbióticos e patogénicos que habitam todo o tipo de organismos multicelulares, incluindo também, o seu material genético, que facilita a adaptação física e comportamental ao longo do tempo.(5,13–15) O termo microbiota é definido como a população de microrganismos vivos presente em diferentes ecossistemas no corpo humano.(12) Embora a maioria se encontre no intestino, também existe o microbioma da pele, das vias respiratórias, da cavidade oral e do sistema genito-urinário.(5,13,16)

Da mesma forma que os mamíferos nunca existiram sem os microrganismos mais rudimentares, também o cérebro necessitou dos sinais provenientes do intestino, sendo bastante importante, do ponto de vista evolutivo, a relação entre o hospedeiro e o seu microbioma.(2) A microbiota humana é composta por 100 triliões de microrganismos que habitam no interior e à superfície do corpo humano, sendo esta um regulador chave da fisiologia do hospedeiro e um determinante crítico da sua saúde.(2,5)

O processo evolutivo e a pressão seletiva conduzem as interações entre o microbioma e os humanos, que são dinâmicas e mutáveis ao longo do tempo.(12) A forte relação existente entre o hospedeiro e o seu microbioma, influenciou diretamente o caminho evolutivo da espécie humana.(12) De acordo com *Fasano e Flaherty*(11), quando se tentou introduzir o

microbioma humano no intestino de um rato, observou-se uma alteração da maturação do seu sistema imunitário, traduzindo-se numa menor proteção contra infeções, em comparação com os ratos que mantiveram o seu microbioma nativo. Esta evidência introduziu o conceito de hologenoma, que assenta na ideia de que o genoma bacteriano coevoluiu com o dos humanos.(11–14) De acordo com esta teoria evolutiva, existe uma forte e mútua influência, entre o fenótipo induzido pelo genoma do hospedeiro humano e pelo sistema hospedeiro-microrganismos, também conhecido como holobionte (figura 1).(11,12,15)

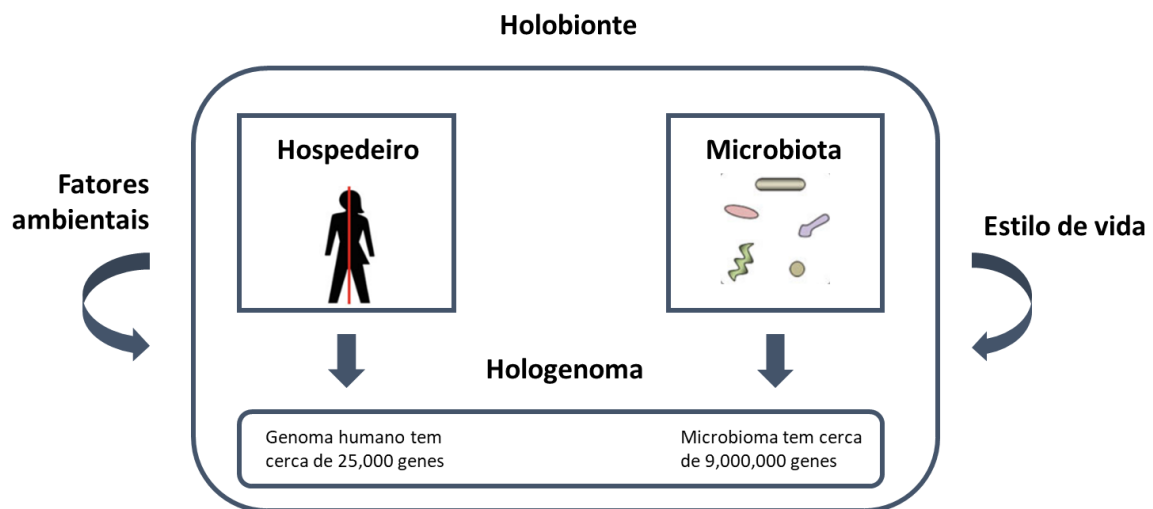


Figura 1- O mais recente modelo holobiont humano, que permite compreender o impacto dos fatores ambientais e do estilo de vida na saúde do hospedeiro. O holobionte engloba o hospedeiro e a sua microbiota e é caracterizado por interdependências entre estes dois. O hologenoma compreende o genoma do hospedeiro e do seu microbioma. Adaptado de (17).

Em 1990, foi lançado o Projeto do Genoma Humano com o objetivo de mapear o material genético humano, tendo sido encarado, inicialmente, com bastante otimismo pela comunidade científica.(11,18) A descoberta de que o genoma é composto por 23.000 genes diferentes, deixou em aberto a questão de como é que o *Homo Sapiens*, geneticamente rudimentar, se transformou num ser complexo e sofisticado, tornando-se a espécie dominante a habitar o planeta Terra.(19) Foi exatamente esta questão, que permitiu o surgimento do segundo maior projeto científico dos últimos anos: O Projeto do Microbioma Humano, em 2008. (11,18)

Há cerca de uma década, o conhecimento do microbioma era realizado com recurso a métodos de isolamento e de culturas bacterianas.(18,20) Posteriormente, começou a usar-se o *next-generation sequencing* (NGS), nomeadamente através da análise do gene de RNA do ribossoma bacteriano 16S (rRNA).(18,20) Embora a ciência tenha melhorado a metodologia de análise, o tipo de amostra a utilizar (amostras fecais, biópsia da mucosa e aspiração intestinal) continua a ser um dos passos mais limitantes, por não refletir com

tanta precisão o microbioma do indivíduo.(18,20) Recentemente e com melhores resultados, tem sido estudado o microbioma através da metagenómica (estudo do DNA), proteómica (estudo das proteínas) e da metabolómica (estudo de pequenas moléculas).(21) Os dados combinados do *MetaHit* (metagenoma do trato gastrointestinal humano) e do *Projeto do Microbioma Humano*, fornecem a visão mais abrangente da composição microbioma até ao momento.(18,22) No entanto, ainda existem poucas ferramentas capazes de oferecer um conhecimento da distribuição espacial do microbioma do intestino.(18,22)

Com o recurso à metagenómica, descobriu-se que o microbioma humano expressa 100 vezes mais genes do que os próprios humanos e que é extremamente adaptável e variável tanto entre indivíduos, como no próprio ao longo dos anos.(22,23) Do ponto de vista genético, mais de 99% dos genes do hospedeiro são microbianos, traduzindo-se em 10 milhões de genes.(2) Dados os factos, é lógico considerar a possibilidade de que o ser humano é o produto da interação destes dois genomas holobionticos, ou seja, da combinação entre o microbioma e o genoma humano.(22)

Enquanto o genoma humano é estável ao longo da vida, o microbioma é diversificado, dinâmico e responsivo a estímulos externos, tornando-o um alvo interessante a nível terapêutico.(2) Com um melhor conhecimento da interação entre estes dois sistemas e a potencial capacidade de manipular o microbioma, a ciência avança de forma promissora para potenciar uma medicina preditiva, com capacidade interventiva adequada nas doenças do século XXI.(11)

3.2. A transformação do microbioma ancestral

O microbioma presente num determinado momento e local no organismo é determinado por fatores evolutivos e ecológicos, que incluem: o processo inicial de colonização, o recrutamento para locais específicos, de acordo com interações entre o genótipo hospedeiro-microbioma, e por fim, pela competição existente entre as células e os microrganismos, que está associada à seleção natural.(24) Da mesma forma que os humanos provocam efeitos significativos no ecossistema ecológico mundial, também essas alterações se fazem sentir no ecossistema humano interno, perturbando o microbioma.(24)

Para melhor entender a complexidade do microbioma e a sua influência na saúde e na patologia humana, foi proposto, em 1989 por David Strachan, a “Hipótese Higiénica”.(25) De acordo com este cientista, a melhoria das condições sanitárias, a lavagem das mãos e o estilo de vida urbanizado, conduziu a uma menor incidência de infeções nas crianças.(11,25) Por outro lado, também provocou um aumento da incidência de asma,

doença inflamatória intestinal, esclerose múltipla, diabetes do tipo 1, doença celíaca e outras doenças inflamatórias crônicas.(11,25) Aparentemente, o excesso de higiene pode privar os humanos de estímulos ambientais, que permitem o correto funcionamento do sistema imunitário.(11,25) Provavelmente, alguns destes estímulos ambientais ditam a composição e a função do microbioma, que atua como um potenciador natural do sistema imunitário, protegendo-o de infecções e da inflamação crônica.(11,25) É neste sentido, que se espera um aumento das doenças inflamatórias crônicas durante os próximos 30 anos, em virtude do estilo de vida atual.(11,25)

As atividades humanas têm efeitos no clima, atmosfera, hidrosfera e na biogeoquímica global, particularmente no que respeita às transições chave do Antropoceno.(24) Nos últimos milhares de anos, o microbioma foi sujeito a pressões seletivas provocadas pelas mudanças na alimentação, protagonizadas pela modernização da agricultura.(24) Com o surgimento da sociedade pós-industrial, passou a utilizar-se poluentes, metais pesados, desinfetantes e agentes antimicrobianos, que provocaram alterações significativas no microbioma humano.(11,18,24)

Alterações na composição do microbioma são consistentes com alguns marcos evolutivos da história da humanidade.(26) Quando se compara o microbioma humano atual com o de humanos mumificados (através de conteúdo fecal fossilizado), é possível perceber que existem alterações relacionadas com mudanças radicais do estilo de vida, ao longo da evolução da vida na Terra, nomeadamente com a transição para uma dieta carnívora.(11,24,26,27)

Deste modo, ao comparar-se o microbioma intestinal dos humanos, com o de outros primatas, os primeiros têm uma menor diversidade bacteriana, uma maior abundância de *Bacteroides* (anaeróbios gram-negativos) e uma menor abundância de *Methanobrevibacter* (arqueia anaeróbio) e de *Fibrobacter* (bactéria ruminal anaeróbia), sendo que estas alterações refletem a transição que ocorreu para uma alimentação rica em produtos de origem animal.(11,26) Também parece claro que o uso do fogo para a preparação de alimentos, pode ter alterado a seleção bacteriana de algumas espécies, nomeadamente as que tinham como substrato os nutrientes vegetais.(24) Durante a evolução humana, ocorreu também uma mudança na capacidade de alocação de recursos ao intestino, que permitiu a existência de um cérebro de maiores dimensões, tendo os humanos atualmente um intestino mais curto.(24)

Contrariamente ao estilo de vida atual, os ancestrais humanos passavam cerca de 90% do tempo a procurar alimento, destinando apenas 10% para funções reprodutivas, uma vez que a alimentação naquela época era bastante mais imprevisível.(11) Os frutos e vegetais, eram considerados como “comida fácil”, encontrando-se abundantemente disponível e distribuída, enquanto que o ato de caçar requeria paciência e habilidade, tendo uma

elevada probabilidade de fracassar.(11) Neste sentido, uma dieta rica em frutos, vegetais, tubérculos, nozes, óleos e com um baixo consumo de produtos animais, é a dieta que mais reflete o caminho evolutivo da humanidade, sendo também, a que mais se assemelha à dieta mediterrânea.(11)

O estilo de vida moderno tem provocado um desequilíbrio do microbioma, ao modificar a coevolução holobiontica.(11) Acredita-se que estas alterações provocam um distúrbio na comunicação entre a comunidade microbiana e o sistema imune.(26) O microbioma humano não é apenas um marco na evolução biológica, é sim dinâmico, reativo e adaptável às alterações que vão acontecendo no meio envolvente.(12) Estas modificações na função e na composição do microbioma provocam, no mundo ocidental, alterações epigenéticas que aumentam a predisposição para certas doenças inflamatórias.(11,18,26)

O ser humano não é apenas “o que come”, mas é também “onde vive”.(11) O microbioma “normal” é apenas um conceito teórico, uma vez que, o que realmente importa, é a perfeita interação que tem que existir para que se possa manter o equilíbrio com o ecossistema microbiano.(11,28)

A composição e a função do microbioma humano, particularmente do que está presente no intestino, é influenciado por vários fatores, como o habitat, o estilo de vida e a alimentação do hospedeiro. (22,29) A disponibilidade de nutrientes que chega ao trato gastrointestinal (TGI) afeta o microbioma residente nesse local, mas os fatores que determinam a sua composição ao longo do intestino são complexos, razão pela qual as comunidades bacterianas são diferentes nos diferentes locais do TGI.(15,16) A primeira colonização ocorre durante o nascimento, com a passagem pelo canal de parto.(15,22) Nas primeiras semanas de vida, o microbioma intestinal é dinâmico e tem uma baixa diversidade, sendo composto essencialmente por bifidobactérias, através do aleitamento materno.(15,30) O aumento da diversidade ocorre ao longo do desenvolvimento, atingindo em adulto uma dominância de Firmicutes, Bacteroidetes e Actinobacteria.(15,22,29) Com o envelhecimento ocorre uma redução de Firmicutes e Actinobacteria e, por outro lado, um aumento de Bacteroidetes e Proteobacteria.(15,22,29)

A emergência das doenças não infecciosas no mundo ocidental, tem sido consequência da perda da extraordinária diversidade microbiana, que é responsável pela colonização benéfica do intestino, permitindo o correto funcionamento das vias metabólicas do hospedeiro.(16,18,22)

Uma vez que o ser humano é o produto da coevolução do seu genoma com o metagenoma, ao perder metade da diversidade do microbioma, é exatamente o mesmo, que perder parte da sua identidade genética.(11) Assim, o sistema imune não seria capaz de funcionar eficazmente, uma vez que com uma menor redundância genética, existem menos

alternativas que permitam manter o equilíbrio do microbioma, que é tão importante para a manutenção da saúde.(11)

Com um melhor conhecimento dos fatores que influenciam a composição e a função do microbioma, será possível entender de que forma uma predisposição genética, se pode tornar realmente patológica nos indivíduos.(11) Desta forma, será possível criar intervenções bastante mais personalizadas, baseadas na prevenção das doenças, ao contrário do que tem sido feito na medicina moderna. (11)

3.3. A composição e a função do microbioma

O microbioma intestinal exerce um papel fundamental na função imunitária, no metabolismo, na digestão e na comunicação intestino-cérebro, sendo essencial na normal fisiologia do TGI.(1) Desta forma, alterações na diversidade ou instabilidade do microbioma provocam doenças gastrointestinais e metabólicas.(1)

Cada individuo tem um microbioma intestinal único, composto por 100 a 1000 espécies microbianas, sendo composto predominantemente por bactérias.(1) A colonização do TGI começa ao nascimento e é alterada por vários eventos ao longo da vida.(29)

O intestino alberga uma variedade de microrganismos, incluindo bactérias, arqueias, vírus e alguns eucariotas, sendo estas primeiras as mais bem caracterizadas.(2,31) Existe, desta forma, mais “omas” para além do “bacterioma”, como o “viroma” e o “micoma”.(2)

A simbiose existente entre os procariontes e o ser humano tem especial importância, na medida em que a microbiota intestinal é composta por 10^{13} a 10^{14} microrganismos, constituindo um ecossistema rico, em termos qualitativos e quantitativos.(13,29)

Os microrganismos podem ser encontrados na superfície externa e interna do corpo humano, incluindo no TGI, no trato respiratório, no trato génito-urinário, na pele, saliva, vagina, mucosa oral e na conjuntiva.(13,32,33) Embora a concentração de bactérias seja maior na saliva, representa apenas 1% da quantidade total de bactérias do cólon.(32) Por outro lado, a concentração de bactérias no estômago e nos dois terços superiores do intestino delgado é de apenas 10^3 a 10^4 bactérias/mL, que se deve, em grande parte, ao baixo pH e ao rápido trânsito intestinal.(32) Assim, o número e a variedade de bactérias aumentam de forma exponencial no sentido proximal-distal do TGI, com o cólon a albergar a maior parte da microbiota.(32)

Atualmente sabe-se que a proporção de células microbianas e de células humanas se encontra numa razão de 1.3:1.(32) Embora o número absoluto de bactérias seja da mesma ordem de grandeza de todas as células do corpo, esta não se traduz nem em peso nem volume, correspondendo apenas a 200 gramas (figura 2).(22,32)

Microbioma intestinal pós colectomia: que consequências?

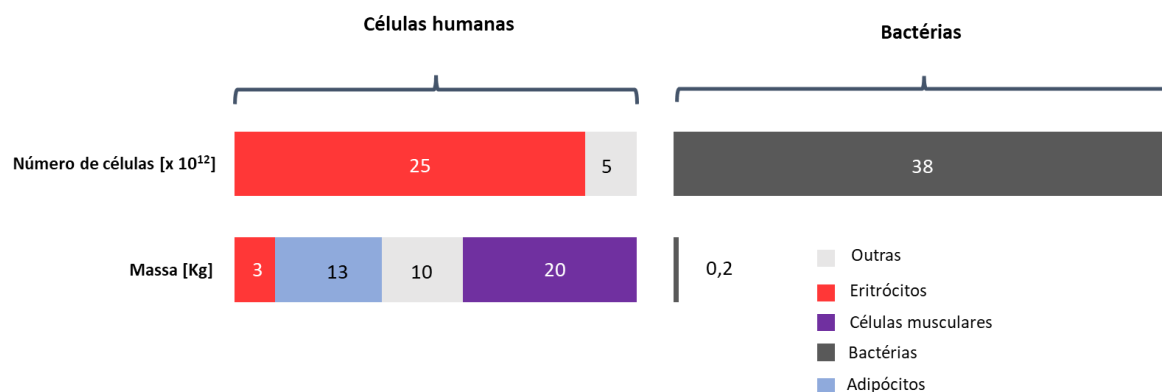


Figura 2- Distribuição do número de células e respetiva massa, existente nos diferentes tipos celulares, num corpo humano de referência (70 Kg). Adaptado de (32).

O conhecimento da microbiota humana só foi possível graças aos avanços recentes na tecnologia de sequenciação, que impulsionaram a metagenómica.(22) Contudo, apesar dos avanços científicos nesta área, ainda não está bem esclarecido o que pode ser considerado uma microbiota “normal”, nem o que pode ser considerado, ao certo, como disbiose.(15,34,35) O que se sabe, é que quando se compara a microbiota de indivíduos “saudáveis” com indivíduos com cancro colorretal, por exemplo, surgem padrões bacterianos distintos.(36–38) Ainda assim, é incerto se as alterações dos padrões são uma causa ou uma consequência da patologia.(38)

Contudo, com algumas exceções, considera-se uma microbiota “saudável” quando esta tem diversidade, tanto a nível de conteúdo como a nível genético.(33) Uma das *hallmarks* de um microbioma saudável, é a sua capacidade para resistir a perturbações ambientais, como alterações na alimentação, fármacos ou mesmo à entrada de bactérias patogénicas no intestino.(33,35) A capacidade de retornar ao estado de equilíbrio anterior à disrupção, é denominada de resiliência.(33)

Como foi dito anteriormente, cada individuo tem um microbioma único.(13,39) A microbiota humana é composta primariamente por bactérias do filo Bacteroidetes (sobretudo *Bacteroides* e *Prevotella*), que são gram-negativos e Firmicutes (sobretudo *Clostridium* e *Lactobacillus*), que são gram-positivos.(13,39) A maioria são anareóbios estritos, em que cerca de 97% corresponde ao filo Firmicutes (64%), Bacteroidetes (23%), Proteobacteria (8%) e Actinobacteria (3%).(13,39) Também podem estar presentes, mas em pouca quantidade, o filo Fusobacteria, Verrucomicrobia e TM7 (2%).(13,39) Fungos e arqueias correspondem a menos de 1% do total da microbiota intestinal (figura 3).(13,39)

Microbioma intestinal pós colectomia: que consequências?



Figura 3- Exemplos taxonômicos da composição microbiana intestinal. Estão exemplificadas as bactérias pertencentes aos filos Firmicutes e Bacteroidetes, que representam 90% da microbiota intestinal. Adaptado de (40).

Os nutrientes presentes na dieta condicionam a microbiota presente no intestino, mas existem mais fatores que determinam a sua composição, como o conteúdo de oxigênio presente no lúmen, a anatomia e fisiologia do intestino, o pH e a peristalse.(2,15,41)

No estômago, ao contrário do que seria de esperar devido à sua acidez, este órgão alberga um ecossistema microbiano bem diferente de outras regiões do TGI, em que dominam as

Proteobacterias, Firmicutes, Actinobacterias, Bacteroidetes e Fusobacteria.(15,41) A microbiota neste local é dinâmica, podendo também incluir bactérias provenientes da cavidade oral.(15,41) Uma bactéria colonizadora do estômago bastante conhecida é a *Helicobacter pylori*, que tem uma prevalência de 50% na população mundial.(15) Nos indivíduos colonizados por este agente, é habitual encontrar-se uma microbiota menos diversificada.(15) Para além disso, a colonização por *H.pylori* provoca um aumento do pH gástrico, permitindo que outras bactérias possam colonizar o estômago, tendo também a capacidade de influenciar as comunidades no duodeno.(15)

O intestino delgado, com um comprimento de 5 a 6m, é o principal segmento intestinal responsável pela absorção de nutrientes, onde predominam os *Streptococcus* e a *Veillonella*.(15,41) É difícil obter amostras desta região, no entanto, neste local existem menos microrganismos que no restante TGI, uma vez que é altamente dinâmico e passível de modificação pela dieta.(15)

O cólon, com 1.5 m de comprimento, é o local onde predomina a microbiota entérica.(15) Num indivíduo saudável, neste local, as bactérias predominantes são sobretudo as Bacteroidetes, Firmicutes e Proteobacterias.(15) A microbiota do cólon é estudada a partir de amostras fecais, embora não haja consenso quanto à sua correlação com o conteúdo presente à superfície da mucosa.(15,41) Recentemente, tem surgido a hipótese que existe uma relação entre a função do apêndice e o microbioma.(15) Tudo indica que a microbiota presente no apêndice é diferente da que se encontra em amostras fecais, sendo mesmo um local onde existe um nicho de Fusobacterias, que são bactérias protetoras e benéficas para o hospedeiro. (15)

O cólon é o local onde os produtos não digeríveis da alimentação, como as fibras, são degradados por enzimas produzidas pelas bactérias.(15,33) É desta reação que surgem os ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs), principalmente, o acetato, propionato e o butirato.(2,42) Alguns são excretados, mas a maioria, cerca de 95%, são usados pelas células do cólon para a produção de energia.(2) Os SCFAs são importantes mensageiros entre o microbioma e o sistema imune, tendo um papel importante na função das células epiteliais e leucocitárias.(2,15) Para além disso, as bactérias do cólon também têm a função de aumentar a absorção de lípidos, proteínas e minerais, como o cálcio, o magnésio e o ferro.(2,15) Algumas têm efetivamente a capacidade de produzir vitaminas, como a tiamina, riboflavina, niacina, biotina, ácido pantoténico, folato e vitamina K. (2,15)

As alterações nos hábitos alimentares ao longo do tempo, provocaram mudanças muito marcadas na composição do microbioma.(11) No entanto, essas modificações não implicam necessariamente alterações na função do microbioma do hospedeiro.(11) A simbiose existente implica estabilidade, pelo que alterações drásticas na composição microbiana são programadas de forma a manter constantes os processos metabólicos.(11)

A confirmar-se este conceito, a ambição de usar o microbioma no tratamento das doenças inflamatórias não tem que ser necessariamente alterar a sua composição, mas sim, procurar manipular as vias metabólicas que estão a afetar negativamente o indivíduo.(11)

3.4. Microbioma intestinal: um sistema interativo integrado

Existem vários mecanismos através dos quais o microbioma intestinal influencia o cérebro, mecanismos esses que se podem sobrepor e amplificar mutuamente. (2,3)

A relação entre o intestino e o cérebro começa ainda *in útero*, uma vez que o SNC e o SNE têm uma origem embrionária comum.(3) A comunicação entre o cérebro e o intestino é bidirecional, sendo mediada por: vias aferentes e eferentes do sistema nervoso autónomo (SNA), proporcionadas pelo nervo vago, pela sinalização neuroendócrina, através do eixo hipotálamo-hipófise-supra-renal (HPA) e pela regulação da serotonina (5-HT).(3,43-45) O eixo HPA regula a resposta do organismo ao stress físico e mental, influenciando o TGI, através de um mecanismo neuronal e imunoregulatório.(3,46) Uma disrupção da mucosa intestinal hiperativa este eixo, promovendo a libertação de citocinas pró-inflamatórias.(3,46) Alterações do microbioma influenciam a função cerebral, através da modulação das vias acima referidas.(45,47)

3.4.1. A barreira intestinal e a sua permeabilidade

A barreira intestinal normal consiste na estratificação de múltiplas camadas, que inclui a microbiota intestinal, a camada de muco, a camada epitelial e a lâmina própria.(48) O muco atua como uma barreira protetora que contém enzimas digestivas, bacterianas e anticorpos, sendo essencial na hidratação e regeneração do epitélio.(48) O epitélio é fundamental na absorção dos nutrientes, mas também tem uma importante função de barreira, devido às suas *tight junctions*.(48) Para além das células epiteliais, também é possível encontrar células enteroendócrinas (EECs), que se encontram intercaladas ao longo da camada epitelial.(7,48) Em conjunto com a lâmina própria, acolhem o maior repositório de células imunitárias, mais conhecido por tecido linfoide associado à mucosa (MALT).(48)

A microbiota intestinal normal é essencial para prevenir a colonização por bactérias patogénicas, capazes de produzir toxinas que aumentam a permeabilidade da barreira.(14) O aumento da permeabilidade intestinal, pode levar ao aumento da translocação bacteriana, através da parede intestinal, até ao tecido linfoide mesentérico.(48) O aumento da exposição do SNE e das células imunes da mucosa às bactérias intestinais, pode provocar um aumento da inflamação, com libertação de citocinas e ativação das

aferências do nervo vago.(2,47,48) Para além disso, produtos metabólicos como o lipopolissacarídeo (LPS) e os péptidos neuroativos, produzidos pelas bactérias, podem alterar a atividade do SNE e do SNC.(2,47,48)

3.4.2. O nervo vago

O SNA, composto pelo simpático e parassimpático, é responsável pela homeostasia fisiológica, assim como pelas respostas endócrinas, motoras, autonómicas e comportamentais.(48) A nível intestinal é responsável pela motilidade, permeabilidade, manutenção do fluido epitelial, osmolaridade intestinal, secreção de bÍlis, controlo da glicémia, distorção mecânica da mucosa, produção de muco e bicarbonato e pela resposta imune da mucosa.(2,3,48)

O TGI influencia a função cerebral e vice-versa.(3) O nervo vago tem capacidade de comunicar com a microbiota através do SNE, transferindo essa informação até ao SNC, onde a mensagem é decifrada e onde é, posteriormente, gerada uma resposta.(2,3) A comunicação bidirecional ao longo do eixo intestino-cérebro é um aspeto fundamental da sinergia existente, permitindo a modulação cerebral e comportamental do hospedeiro.(2,3,48)

3.4.3. Os metabolitos bacterianos e neurotransmissores

A comunicação com o SNC é influenciada pelas substâncias que as bactérias libertam para lúmen intestinal, que incluem os SCFAs, ácidos biliares secundários (2BAs) e os metabolitos do triptofano.(45,49) Estas moléculas propagam sinais primariamente através da interação com as EECs, enterocromafins (ECCs) e com o sistema imune presente na mucosa.(50) No entanto, algumas destas atravessam a barreira intestinal, entrando na circulação sistémica, podendo passar a barreira hematoencefálica.(47) A microbiota, para além de produzir estes metabolitos, que ativam mecanismos endógenos de sinalização no SNC, tem também a capacidade, de forma independente, de contribuir para a produção de moléculas neuroativas, tais como o ácido γ -aminobutírico, 5-HT, noradrenalina e dopamina. (3,7,47,50)

Embora os ácidos biliares sejam sintetizados no fígado, a partir do colesterol, o tamanho e a composição da *pool* destas moléculas é influenciada por uma alimentação rica em gorduras, assim como pelo seu metabolismo, que é realizado pelo microbioma.(47)

Os SCFAs são formados pela fermentação do amido e outros polissacáridos resistentes à digestão, desempenhando um papel importante na criação de energia, na estimulação do peristaltismo, na absorção de fluidos e eletrólitos e na proliferação da mucosa.(2,3,47) A quantidade de fibras ingeridas na dieta é o maior regulador da concentração destes ácidos

gordos.(2) Desta forma, os SCFAs produzidos pelas bactérias intestinais, estimulam as células L do íleo distal a secretar péptido YY e peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1), que têm a capacidade de induzir saciedade e de modular o comportamento humano.(2,7,47)

A serotonina, produzida pelas ECCs, é tanto um neurotransmissor como uma hormona, sendo conhecida como a reguladora primária do humor e da cognição.(3,49) Uma diminuição da atividade do seu recetor, está associada a uma maior incidência de ansiedade e depressão.(3,45) Por outro lado, a serotonina tem também um papel importante na secreção e na motilidade intestinal, sendo uma molécula chave na sinalização do eixo microbioma-intestino-cérebro.(3) Considerando o papel central desta hormona na regulação da motilidade e da secreção, existe uma considerável pressão seletiva nos microrganismos entéricos para atuarem neste sistema serotoninérgico, nomeadamente através dos SCFAs e 2BAs.(2,3) Dado que o ser humano é incapaz de produzir triptofano, podendo apenas obtê-lo através da dieta, o microbioma intestinal contribui para a sua disponibilidade periférica, que é essencial para a produção de 5-HT.(47)

3.5. A contribuição do microbioma para os processos patológicos

O microbioma é capaz de afetar o metabolismo do hospedeiro, o sistema imune, o sistema endócrino e a função neurológica, contribuindo assim, para a suscetibilidade ao desenvolvimento de doenças no hospedeiro.(51) A disbiose deste “segundo cérebro” tem um papel importante no desenvolvimento de neoplasias e doenças gastrointestinais, como a doença inflamatória intestinal, síndrome intestino irritável, asma atópica, doenças comportamentais, obesidade, diabetes mellitus do tipo 2, esteatose hepática, doenças cardiovasculares, doenças inflamatórias, doenças autoimunes e doenças neurológicas e psicológicas (figura 4).(7,46,51–54)

As bactérias comensais que residem no intestino, também denominadas de microbiota autóctone, são diversas e algumas espécies têm mesmo papéis opostos.(41) Estes microrganismos são essenciais ao normal funcionamento do sistema imunitário, pelo seu papel na homeostasia inflamatória e na regulação imune.(41) A microbiota é responsável pela ativação das células T auxiliares 17 (Th17), que são pró-inflamatórias, das células T reguladoras (Treg) e do sistema imune inato.(55) A estimulação de neutrófilos mais envelhecidos pelo microbioma, reduz as substâncias pró-inflamatórias, através da via de sinalização do TLR/MyD88.(55) Por exemplo, alguns tipos de bactérias promovem o desenvolvimento das Treg, enquanto outras estimulam o desenvolvimento das Th17.(41) O

equilíbrio do microbioma é necessário para o normal funcionamento do tecido linfóide associado à mucosa e para os mecanismos de tolerância induzidos pelas Treg.(41)

A colonização por *Bacteroides fragilis*, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* realçou o papel regulador das Treg, promovendo a libertação de substâncias anti-inflamatórias.(41) Por outro lado, *C. arthromitus* promove o desenvolvimento das Th17, estando consequentemente envolvido na patogénese de doenças autoimunes e inflamatórias.(41) Com o aumento do conhecimento nesta área, a microbiota tem sido implicada num número crescente de doenças neurológicas e psicológicas.(2,46) Estas últimas, estão associadas à exposição a fontes de stress exógenas, à desregulação do eixo HPA, a mecanismos de *coping* individuais e à capacidade de resiliência do próprio hospedeiro.(41,46) Todos eles são componentes da resposta à ameaça, com capacidade de serem modulados pelo microbioma.(2)

Depois de adquirida uma visão integrada do funcionamento do microbioma e das suas implicações na saúde humana, passaremos no próximo capítulo ao desenvolvimento da questão: “Que alterações esperar nos indivíduos em que há necessidade de remover o cólon e o seu microbioma?”.

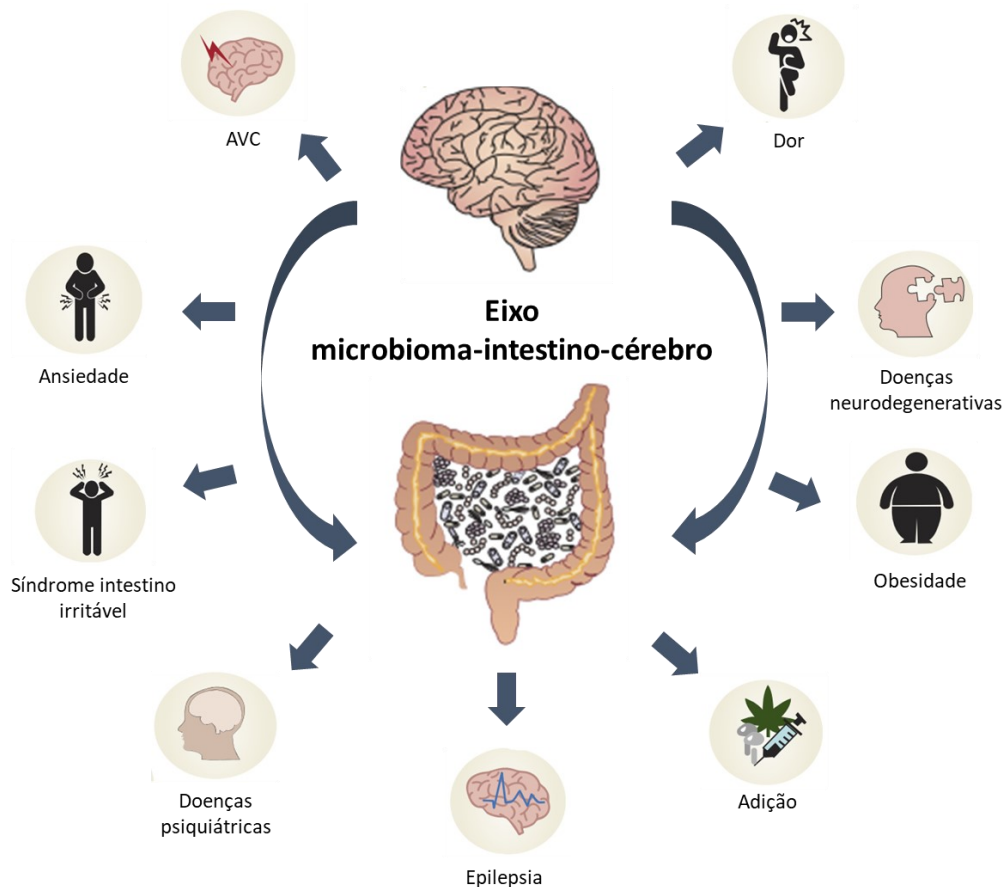


Figura 4- A figura demonstra a variedade de doenças que estão associadas ao distúrbio do microbioma, como doenças psiquiátricas e neurodegenerativas, dor, stress, síndrome intestino irritável, acidente vascular cerebral (AVC), adição e obesidade. Adaptado de (2).

4. Modificações no microbioma após colectomia

O microbioma e o epitélio intestinal humano mantêm uma relação simbiótica estável.(9) Quando o hospedeiro altera as condições de “hospitalidade”, como quando é submetido a uma redução anatômica intestinal, ocorre um desequilíbrio do microambiente.(9)

De acordo com o GLOBOCAN 2020, em Portugal, o cancro colorretal (CCR) foi, em ambos os sexos, a neoplasia mais diagnosticada e a segunda causa de morte por cancro.(56) A cirurgia colorretal representa o tratamento *standard* para esta neoplasia, num contexto de um tratamento multimodal que é administrado consoante o estadió e a localização do tumor.(8) No entanto, este tipo de cirurgia é também indicado no tratamento da doença diverticular, na doença inflamatória intestinal, nas obstruções mecânicas, em algumas doenças do reto e em condições de lesão e isquémia intestinal.(57)

4.1. Alterações na composição da microbiota intestinal

As alterações fisiológicas no corpo humano causadas pelo stress cirúrgico, ativam respostas do hospedeiro que têm impacto no microambiente intestinal, provocando a disrupção do delicado equilíbrio ecológico.(8–10,58)

A composição e a diversidade da microbiota nos pacientes com cancro colorretal, após colectomia, é diferente da microbiota destes mesmos pacientes antes da cirurgia, sendo também diferente, da microbiota de indivíduos saudáveis.(8–10,59) Uma elevada diversidade microbiana está relacionada com uma maior estabilidade e consequentemente, com a saúde dos indivíduos.(8–10,59) A redução da diversidade ecológica dos microrganismos do cólon após colectomia, enfraquece a capacidade de resistência às bactérias patogénicas.(59) Nos indivíduos saudáveis, a microbiota é composta predominantemente pelos filos Firmicutes e Bacteroidetes, enquanto as Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia e Fusobacteria são menos abundantes.(8,10,59) A disbiose associada à colectomia nestes pacientes, é caracterizada por um aumento das Proteobacteria, o que torna a comunidade microbiana mais instável.(8,10,59)

Ohigashi *et al.*(60) que conduziu o primeiro estudo para avaliar o impacto da ressecção do cólon sobre o microbioma, demonstrou uma diminuição da abundância de bactérias anaeróbicas obrigatórias, como os membros das *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* e *Prevotella*, que são cruciais para a homeostasia intestinal. Por outro lado,

bactérias patogénicas como *Enterococcus*, *Pseudomonas* e *Staphylococcus* encontram-se em maior abundância.(58,60,61)

Num estudo mais recente, Deng *et al.*(62) mostrou uma diminuição de Firmicutes e Bacteroidetes e um aumento das Proteobacteria, em pacientes que foram submetidos a colectomia por neoplasia colorretal, em comparação com indivíduos saudáveis e com indivíduos com neoplasia do cólon, que não foram sujeitos a cirurgia. Cong *et al.*(59) também demonstrou uma significativa redução da diversidade microbiana em doentes que fizeram ressecção cirúrgica do cólon, em comparação com indivíduos saudáveis e com carcinoma colorretal, não tratados cirurgicamente. Foi descrita uma maior abundância do filo Proteobacteria e do género *Klebsiella* no grupo com CCR pós-cirúrgico, em comparação com o grupo com CCR pré-cirúrgico.(59) No grupo pós-cirúrgico, a presença de *Klebsiella* esteve relacionada com aumento do desenvolvimento de infeção e de invasão linfática, dado ser uma bactéria oportunista, contribuindo para o aumento da morbimortalidade pós-cirúrgica.(59)

Kong *et al.*(63), mostrou uma diminuição do rácio Bacteroidetes/Firmicutes após ressecção do cólon por CCR, verificando que esta alteração contribuía para um aumento do estado pró-inflamatório subsequente. Por outro lado, as bactérias anaeróbicas obrigatórias benéficas, como as *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Parabacteroides* e *Prevotella*, encontram-se menos presentes no lúmen intestinal.(63) Além destas alterações, este autor também demonstrou que a cirurgia radical remove não apenas o tumor, mas também as bactérias associadas ao microambiente tumoral, o que poderá ajudar na prevenção da recorrência da neoplasia.(63)

As bactérias produtoras de butirato, como os *Bacillus*, *Bilophila* e *Barnesiella*, também se encontram diminuídas, enquanto a *Escherichia-Shigella*, *Enterobacteriaceae* e *Streptococcus* passam a ter um papel mais relevante no microambiente intestinal.(63)

Por fim, após cirurgia ao cólon, de forma generalizada, a microbiota intestinal fica com uma menor rede ecológica, estando mais sensível a alterações externas. Consequentemente, as perturbações no microbioma promovem um estado pró-inflamatório, com resultados de prognóstico mais adversos.(63,64)

4.2. Fatores que contribuem para a modificação do ambiente microbiano

Nos pacientes sujeitos a colectomia, o stress cirúrgico não é a única variável que promove alterações no microbioma (tabela 1).(9,65) Outras intervenções realizadas no decurso da cirurgia, impostas pelo desenvolvimento da medicina, como a limpeza intestinal prévia, o jejum prolongado, a nutrição endovenosa e a administração de fármacos (antibióticos,

agentes vasoativos, inibidores da bomba protões e opióides) contribuem para as alterações anteriormente descritas (figura 5).(8,9,65)

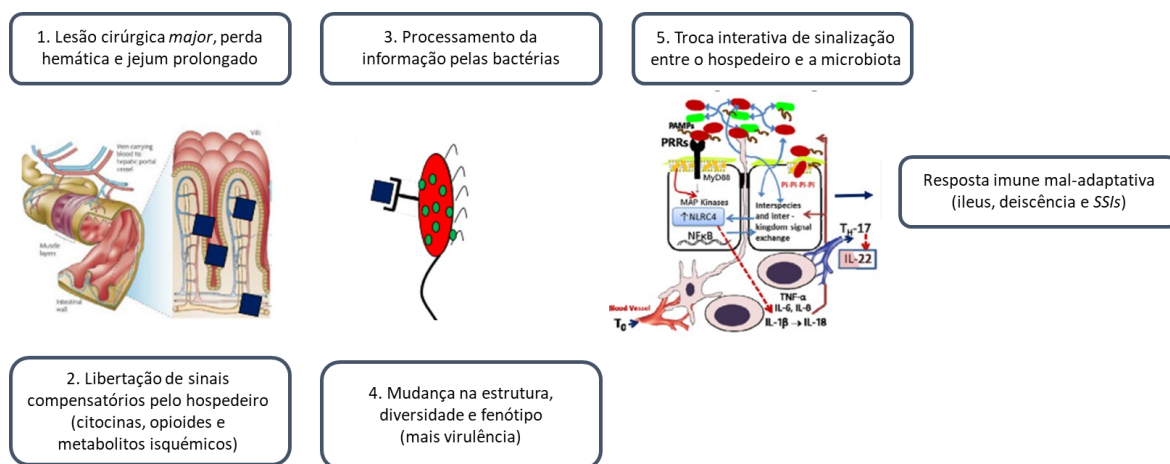


Figura 5- Proposta de mecanismo através do qual o microbioma influencia a resposta do hospedeiro ao trauma cirúrgico. Sequência de eventos pelo qual a lesão cirúrgica causa uma resposta mal adaptativa do microbioma. Adaptado de (65).

As intervenções peri-cirúrgicas, de modo especial a preparação intestinal mecânica e a terapia antimicrobiana profilática, causam significativas alterações na composição e função do microbioma.(8,9) Como o microbioma tem um papel importante na cicatrização da anastomose e na modulação imune, as suas alterações, em resposta ao stress cirúrgico e às intervenções pré-cirúrgicas, podem estar relacionadas com a ocorrência de complicações posteriores, como um maior risco de infeções e de deiscência da anastomose.(8) A análise da microbiota intestinal pode ser um potencial marcador do risco de ocorrência de complicações pós-cirúrgicas, influenciando consequentemente o prognóstico da patologia de base, que motivou a cirurgia. (8)

Tabela 1- Fatores com capacidade de modificar o microbioma. Adaptado de (9).

Manipulações pré-cirúrgicas
Limpeza intestinal mecânica
Antibióticos
Hormonas libertadas em situações de stress (catecolaminas)
Fármacos vasoativos (noradrenalina)
Opióides endógenos e exógenos
Restrição alimentar
Insuficiência de micronutrientes
Cirurgia/manipulação intestinal/resseção/anastomose

4.2.1. Efeito da preparação intestinal mecânica

A solução mais utilizada para reduzir o risco de infecção após colectomia, é a preparação intestinal mecânica (MBP), que reduz o conteúdo fecal através de um agente osmótico, o polietilenoglicol (PEG).(34) Este conceito é uma prática usual, permitindo uma manipulação mais fácil do cólon, facilitando a palpação de pequenos focos neoplásicos durante o procedimento cirúrgico.(8,34,66) Os laxantes osmóticos provocam um *wash out* de conteúdo fecal luminal, com significativa redução da carga bacteriana, enquanto o aumento do peristaltismo contribui igualmente para expulsar as bactérias que não estão aderentes à mucosa.(9)

A lavagem mecânica também pode alterar as vias de sinalização intracelular envolvidas na proliferação celular, influenciando as interações entre a mucosa e a matriz extracelular, que são componentes chave da barreira intestinal.(9)

No entanto, mais recentemente, tem sido considerada a possibilidade da MBP ter algumas desvantagens.(8,34,57) A análise do microbioma em doentes sujeitos a sigmoidoscopia, revelou uma redução significativa da diversidade bacteriana, associando-se a uma diminuição dos SCFAs, contribuindo para alguma perda de função da barreira intestinal, com consequente translocação bacteriana e um aumento de complicações infecciosas.(8) Imediatamente após a lavagem, a microbiota sofre significativas alterações, com a diminuição dos *Bacilli*, *Clostridium* cluster IV e *Lactobacillaceae* e um aumento das Proteobacteria, *Clostridium* cluster XIVa, *Enterobacteriaceae* e *Streptococcaceae*.(9,67) A MBP reduz todo o tipo de bactérias, incluindo as não patogénicas, como os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, permitindo que as patogénicas se desenvolvam, como a *Escherichia coli* e os *Staphylococcus*.(8)

4.2.2. Antibioterapia perioperatória

A introdução da antibioterapia sistémica melhorou os resultados cirúrgicos, através do controlo de possíveis complicações infecciosas.(8,9,34) Os regimes profiláticos são constituídos por antibióticos de largo espectro, não sendo possível a administração de fármacos seletivos para determinadas bactérias patogénicas.(8,9,34,59)

Os antibióticos não seletivos provocam uma profunda disbiose intestinal e uma disrupção do metaboloma, favorecendo o aparecimento de microrganismos oportunistas, que podem perdurar durante vários meses.(8,34) Paradoxalmente ao que seria de esperar, a administração de antibióticos, com uma lesão epitelial simultânea, promove uma translocação bacteriana, com consequente inflamação sistémica e sépsis associada.(8,34)

A *American Society for ERAS (Enhanced Recovery After Surgery)*, recomenda por rotina o uso de antibióticos pré-cirúrgicos, embora exista alguma discrepância nos estudos

clínicos.(8,57,65) A administração de antibióticos tem efeitos destrutivos na ecologia das bactérias comensais do intestino, variando desde uma simples diarreia autolimitada a uma colite pseudomembranosa.(9) Estudos mais recentes têm demonstrado que o uso destes fármacos afeta não só a composição microbiana, como também a expressão génica e a atividade proteica, provocando uma desorganização das vias metabólicas do hospedeiro.(9) Mesmo que a administração dure poucos dias, as alterações no microbioma podem persistir durante 24 meses.(9)

Microbioma intestinal pós colectomia: que consequências?

5. Complicações a curto e longo prazo após colectomia

A colectomia é um procedimento cirúrgico comum, que é realizado por vários motivos, podendo muitas vezes ser a única opção terapêutica.(68) No entanto, cerca de 40% dos pacientes submetidos a colectomia total, reportam sintomas gastrointestinais persistentes, como flatulência, distensão abdominal, dor e diarreia, associando-se a uma menor qualidade de vida.(68)

Complicações após cirurgia colorretal, especialmente no contexto do tratamento neoplásico, são muitas vezes resultado de infeções, que causam aumento da morbimortalidade e elevados custos hospitalares.(10,61) Neste processo, o intestino tem um papel crucial, uma vez que a falência da barreira intestinal tem sido considerada como um fator relevante, que conduz a uma translocação bacteriana, em que as bactérias e os seus produtos virulentos entram em circulação sistémica, provocando uma síndrome da resposta sistémica à inflamação (SIRS).(9)

O controlo dos fatores de risco de possíveis complicações pós-cirúrgicas, tem sido alvo de intenso estudo ao longo dos últimos anos.(34,57) Muitos dos resultados, a curto e longo prazo, têm sido melhorados após uniformização e centralização das cirurgias, aumentando a experiência técnica neste procedimento.(34,57,61) No entanto, um número substancial de pacientes desenvolve complicações após a cirurgia, sobretudo ileus pós-operatório (POI), em 10-30%, infeções do local cirúrgico (SSIs), em 6.5-20%, deiscência da anastomose (AL), em 2.7-20% e readmissões hospitalares, 8.1-11.8%.(34,57)

Os fatores de risco são bem conhecidos, sendo que alguns estão relacionados com o paciente, não sendo modificáveis, como a idade e comorbilidades pré-existentes.(57) Algumas das complicações cirúrgicas foram associadas à falta de assepsia, a defeitos na técnica cirúrgica e à inexperiência na realização do procedimento.(57) No entanto, a ocorrência de complicações não é completamente compreendida, uma vez que ocorrem mesmo em doentes com poucos fatores de risco.(57)

Recentemente, tem sido reconhecida a importância da relação bidirecional entre o microbioma e o trauma/*stress* cirúrgico, o que o tornou num novo fator de risco determinante para o desenvolvimento de complicações.(57) Identificar as alterações e as consequentes complicações das mesmas, é uma oportunidade para novas abordagens preventivas e terapêuticas, como veremos mais adiante.

5.1 Complicações a curto prazo por alteração do ecossistema microbiano

5.1.1. Ileus pós-operatório

O ileus pós-operatório é definido como a ausência de motilidade intestinal após o 5º dia de ressecção do cólon, acompanhado de náuseas ou vômitos.(10,57) É reportado em 10-30% dos doentes submetidos a cirurgia abdominal e a sua ocorrência aumenta o tempo de permanência hospitalar e a taxa de novas intervenções cirúrgicas.(57) A ocorrência de ileus está dependente de vários mecanismos, como a inflamação, com reflexos neuronais inibitórios e com péptidos neurohumorais.(57) O microbioma é capaz de modular diretamente as sinapses intestinais, que têm influência na motilidade intestinal, funcionando como um possível ativador de células dendríticas, macrófagos e monócitos, que estão envolvidos na inflamação.(10,57,65)

5.1.2. Aderências pós-cirúrgicas

São uma consequência frequente das cirurgias abdominais, ocorrendo entre 63-97% e estão associadas a complicações obstrutivas, que podem ocorrer meses ou anos após o procedimento.(57) Com o surgimento da laparoscopia, a sua incidência tem diminuído, no entanto, ainda é uma causa significativa de elevados custos hospitalares.(57) A sua ocorrência tem sido recentemente atribuída ao microbioma e é favorecida pela inflamação, pela produção de citocinas e pelo stress oxidativo.(10,57)

5.1.3. Infecções do local cirúrgico

A infecção do local cirúrgico é definida como uma infecção que ocorre nos primeiros 30 dias após a cirurgia, envolvendo a pele e o tecido subcutâneo da incisão e/ou o tecido mole mais profundo.(57) Ocorre entre 3-26% dos doentes que são submetidos a cirurgia colorretal, tendo sido uma das principais razões para a introdução dos antibióticos profiláticos antes da cirurgia.(8,34) O surgimento de infecção após colectomia continua a ser uma das principais complicações, resultando em readmissões e elevados custos hospitalares.(57) O principal agente etiológico é o *Staphylococcus aureus* e, de acordo com a hipótese do “Cavalo de Tróia”, a baixa abundância de bactérias patogénicas, como o MRSA (*methicillin-resistant S. aureus*), pode provocar a sua translocação para dentro de um neutrófilo ou macrófago em locais remotos da ferida, resultando em infecção.(8,65)

O microbioma intestinal é capaz de promover a cicatrização da ferida através do recrutamento de linfócitos T, mediado pela libertação de oxitocina, que é produzida em resposta à estimulação do nervo vago pela fermentação do ácido láctico.(8) A disrupção do

microbioma intestinal, após ser submetido ao *stress* cirúrgico, pode alterar este mecanismo, contribuindo para a infecção da ferida pela microbiota residente na pele, como pelo *S. aureus*, resultando num atraso da cicatrização.(8,10)

O jejum pós-cirúrgico prolongado, não compensado com nutrição enteral, é capaz de alterar a composição microbiana, predispondo a um maior risco de infecções.(10) Para além deste fator, também o uso de opioides é capaz de inibir o sistema imune, contribuindo para modificar a composição do microbioma residente.(10)

5.1.4. Deiscência da anastomose

A deiscência da anastomose constitui uma das complicações mais desastrosas da cirurgia, ocorrendo entre 3-20% dos procedimentos.(9,10,65) Assim que a anastomose é realizada, a reparação tecidual é imediatamente iniciada e está dividida em 3 fases.(8) O processo de reparação conduz à restituição da barreira epitelial intestinal com vários componentes do microambiente intestinal a estarem envolvidos: as células do hospedeiro, o conteúdo luminal e o microbioma.(8) Este pode promover ou suprimir a reparação da anastomose, através da competição ou cooperação que ocorre consoante o tipo de bactérias envolvidas.(8) O microbioma intestinal residente contribui para o processo de reparação fisiológico, uma vez que as bactérias interagem com as células epiteliais intestinais, através de recetores do sistema imune inato, que são os TLRs (*toll-like receptors*). (8) Os produtos de fermentação das fibras alimentares, como os SCFAs, são a maior fonte de energia dos colonócitos, regulando a proliferação e a manutenção da barreira intestinal, contribuindo assim, para limitar o crescimento de bactérias patogénicas, através da inibição de citocinas pró-inflamatórias.(8,65)

Tradicionalmente, a ocorrência desta complicação estava associada a uma inadequada técnica cirúrgica, como o excesso de tensão e o tipo de sutura utilizada.(8) Mais recentemente, têm surgido novos fatores, relacionados com a composição do microbioma, que podem contribuir para a deiscência da anastomose: sexo masculino, tabagismo, obesidade, diabetes, baixa concentração de albumina, corticoides e o uso de quimioterapia neoadjuvante.(57)

A relação causal entre a deiscência da anastomose e algumas bactérias, como o *Enterococcus faecalis* e a *Pseudomonas aeruginosa*, deve-se ao facto destas espécies terem a capacidade de produzir colagenases, como a metaloproteinase de matriz 2 (MMP-2) e metaloproteinase de matriz 9 (MMP-9).(8–10) Ainda assim, a sua presença é necessária, mas não suficiente para destruição da anastomose.(8–10) As outras condições necessárias para a ocorrência desta complicação são: o desequilíbrio do microbioma, a resposta inflamatória provocada pela construção da anastomose e a virulência das bactérias patogénicas.(10) A inoculação com *P. aeruginosa* em ratos, levou a um aumento

da incidência de deiscência em cerca de 95%, com significativo aumento da mortalidade associado.(9,57) No entanto, a maioria dos estudos que demonstraram o papel do microbioma na anastomose foram realizados em animais, pelo que é necessária mais informação acerca do papel da mesma no ser humano.(8)

5.2 Complicações a longo prazo por alteração do ecossistema microbiano

O TGI tem um papel importante na homeostasia e no controlo metabólico, no apetite e no esvaziamento gástrico, na motilidade intestinal, na digestão, na absorção de nutrientes e na secreção de insulina.(11) Enquanto que o papel do intestino delgado está bem estabelecido, no que respeita ao cólon, este tema está menos explorado.(69) A cirurgia bariátrica, que modificou a estrutura e a função do TGI, mostrou benefícios no controlo da obesidade e da diabetes tipo 2.(69) No entanto, existe pouca literatura focada na relação que existe entre a colectomia e o síndrome metabólico.(69) Entender as consequências da colectomia é importante, não só para os pacientes submetidos a este tipo de cirurgia, mas também porque permite aprofundar o conhecimento da comunicação entre o microbioma e as doenças metabólicas.(69)

5.2.1. Modificações metabólicas

Num estudo realizado por Lin *et al.*(69), em pacientes com neoplasia colorretal submetidos a colectomia parcial, foram descritas alterações metabólicas mais de 5 anos após a cirurgia, tais como o aumento da glicémia em jejum e síndrome metabólico, sendo que este é caracterizado por hiperinsulinémia e hiperglicemia.(69) Pensa-se que a explicação para o síndrome metabólico nestas circunstâncias se deve: ao aumento da lipólise no tecido adiposo por redução da produção dos SCFAs; pela diminuição da concentração do GLP-1, secretado pelas células-L no cólon distal e por fim, pelo aldosteronismo secundário.(69)

Os diabéticos mal controlados têm diferentes tipos de bactérias no intestino em comparação com indivíduos saudáveis.(70) No entanto, ainda não se conseguiu perceber se estas alterações estão na base da patogénese da doença, ou se por outro lado, são uma consequência do seu tratamento.(70)

De acordo com Jensen *et al.*(70), a eliminação da microbiota fecal pelo uso de antibióticos em humanos, não tem efeito a curto prazo na regulação da glucose, embora alguns estudos realizados em animais sugerissem que a obesidade poderia ser transmitida através da microbiota fecal.

A partir deste ponto, existe uma controvérsia em relação aos resultados obtidos nos principais estudos realizados neste âmbito, no entanto, ambos concordam que existe um risco acrescido de modificações metabólicas após ressecção do cólon, tanto de forma total como parcial (tabela 3).

Num dos estudos realizados por Lin *et al.*(69), os doentes submetidos a hemicolectomia direita (RH), em comparação com os que foram sujeitos a ressecção anterior baixa (LAR), apresentam maior probabilidade de aumento da glicémia em jejum e síndrome metabólico, o que poderá significar que o cólon proximal é o local de maior importância no controlo da glicose. No sentido proximal-distal, existe uma diminuição da concentração de ácidos gordos de cadeia curta, o que faz da primeira porção do cólon o principal local de fermentação dos mesmos.(69) Nestes pacientes, também existe uma redução das espécies *Roseburia* e *Faecalibacterium prausnitzii*, que são conhecidas pela produção de butirato.(69) Um transplante de *Roseburia* e de butirato aumenta a sensibilidade à insulina, o que demonstra a importância destes intervenientes no controlo da glicémia.(69) A diversidade bacteriana no cólon diminui de forma mais significativa após uma hemicolectomia direita, em comparação com a ressecção anterior, existindo uma menor abundância do filo Firmicutes e *Clostridia* e uma maior concentração de *Fusobacterium nucleatum*, que é uma bactéria patogénica periodontal, também presente na placa gengival.(69) Todas estas alterações são encontradas em doentes com diabetes mellitus tipo 2, o que evidencia a possível relação entre a cirurgia ao cólon e a desregulação metabólica que ocorre posteriormente.(69) Estas alterações nos padrões microbianos no cólon foram descritas em doentes que foram submetidos a colectomia por neoplasia colorretal, doença inflamatória intestinal e doença de Hirschsprung.(69)

No outro estudo realizado por Jensen *et al.*(70), os doentes submetidos a colectomia mostraram um aumento generalizado do risco de diabetes, no entanto, o risco foi superior nos indivíduos em que lhes foi removido o cólon esquerdo, enquanto que a ressecção do reto não alterou o risco de desenvolvimento da doença. Para além deste facto, este estudo demonstrou que a doença de base, que provocou a necessidade de colectomia, não influenciou o risco de diabetes, ou seja, este risco está apenas relacionado com a remoção do cólon.(70) De acordo com estes autores, o desenvolvimento de diabetes do tipo 2, pode ser explicado pela remoção das células produtoras de GLP-1 ou por alterações na composição e função do microbioma que ocorrem após a cirurgia.(70) A densidade das células-L, produtoras de GLP-1, aumenta no sentido distal do cólon, o que está de acordo com o aumento do risco de diabetes que se verificou neste estudo, tendo conta que se retirou o cólon esquerdo.(70) Outro argumento, encontrado pelos autores, a favor dos resultados, é que a quantidade de bactérias aumenta ao longo do cólon, sendo que quando se retira o cólon esquerdo, se remove grande parte do microbioma.(70) Este autores

também levantam a possibilidade de ao ressecar-se a região ileocecal, haja um sobrecrecimento no TGI restante, uma vez que existe uma alteração da colonização bacteriana desse local.(70) Todas estas alterações após colectomia, alteram a conversão dos ácidos biliares primários em secundários, que conseqüentemente terá influência no metabolismo da glicose.(70) Os resultados deste estudo foram baseados apenas no registo clínico dos pacientes, pelo que são necessários mais estudos clínicos para estabelecer com mais precisão a relação entre a colectomia e as modificações metabólicas, assim como o papel do cólon na regulação da homeostasia da glicose.(70)

Contudo, ambos os autores, Lin *et al.*(69) e Jensen *et al.*(70), concordam que a proctomia não tem influência no risco de desenvolvimento de diabetes, uma vez que tanto o conteúdo fecal, como as bactérias e os respectivos estímulos às células-L, estão pouco tempo presentes nesse local. A remoção do cólon, de forma total ou parcial, influencia as trocas entre o epitélio intestinal, os fluidos e os alimentos ingeridos, especialmente ao alterar a degradação das fibras em SCFAs, que tem um forte impacto no desenvolvimento de diabetes tipo 2.(69,70)

5.2.2. Risco de doença cardiovascular

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte nos países desenvolvidos e são responsáveis por 45% da mortalidade na Europa.(71) Doenças cardiometabólicas como a obesidade, diabetes tipo 2 e o síndrome metabólico têm estado associadas à poluição ambiental, ao estilo de vida e à nutrição.(71,72) No entanto, alterações da composição do microbioma também afetam o metabolismo do hospedeiro, contribuindo, desta forma, para o risco cardiometabólico.(71,72)

Num estudo realizado em doentes sem neoplasia colorretal, por Wu *et al.*(71), a RH esteve associada à diminuição do risco cardiovascular, enquanto que, por outro lado, a hemicolectomia esquerda (LH) a um aumento do risco. A doença diverticular, que é uma das causas de cirurgia é, por si só, um fator que aumenta o risco cardiovascular.(71) Ainda assim, a hemicolectomia direita parece ser protetora de eventos cardiovasculares, mesmo em doentes com esta patologia de base.(71)

A composição da microbiota, a sua função fisiológica e o grau de fermentação diferem ao longo do cólon, pelo que o risco cardiovascular pós-cirúrgico está dependente do tipo de colectomia realizada.(71) De acordo com Wu *et al.*(71), a produção de SCFAs, que são benéficos ao hospedeiro, produz concomitantemente metabolitos que aumentam o risco cardiovascular (CV). Por isso, a remoção do cólon proximal, através de uma hemicolectomia direita, e a remoção do cego reduzem este risco, uma vez que é nesse local que as bactérias produzem uma maior quantidade de SCFAs.(71) No entanto, este estudo

contradiz os resultados de Jensen *et al.*(73), pelo que é necessário investigação adicional para esclarecer esta relação.(71)

Novas evidências científicas têm sugerido que o microbioma está envolvido no desenvolvimento de aterosclerose, doenças cardiovasculares e cerebrovasculares.(73) Um microbioma prejudicial, em combinação com uma barreira intestinal permeável, pode induzir um estado de disbiose, que conduz a uma inflamação sistémica e à prevalência de bactérias específicas no cólon.(73) A difusão de LPS para a circulação, devido à disrupção da barreira intestinal, leva a uma endotoxémia metabólica que induz inflamação sistémica.(73) A fermentação de algumas bactérias no intestino aumenta os níveis de N-óxido de trimetilamina, que tem sido considerado um promotor de aterogénese.(72,73)

De acordo com o estudo de Jensen *et al.*(73), que acompanhou doentes dinamarqueses após cirurgia colorretal entre 1996-2014, concluiu que não existe uma redução significativa do risco de doença cardiovascular nos pacientes que foram submetidos a colectomia, exceto o facto de ter ocorrido uma diminuição das doenças hipertensivas nesses pacientes. Este facto poderá ser explicado por ocorrer uma menor reabsorção de sódio e água.(73) Assim, tendo em conta que a hipertensão é um conhecido fator de risco cardiovascular, a ligeira tendência de diminuição do risco cardiovascular poderá estar relacionada com este efeito.(73)

5.2.3. Risco de recidiva do carcinoma colorretal

A taxa de recorrência após cirurgia curativa de CCR pode atingir os 40%, sendo que a maior parte dos casos ocorre nos primeiros 3 anos.(10) A recorrência local, ou seja, perianastomótica, ocorre entre 1-23%, sendo principalmente observada após deiscência da anastomose.(10) Existem várias explicações para este facto, como o atraso no início da terapêutica adjuvante, a persistência de células tumorais exfoliadas após ressecção, e por um processo de iniciação metacrónica de um novo tumor promovida pela inflamação.(10,74)

Vários estudos demonstram alterações bacterianas em indivíduos sujeitos a colectomia por CCR. Deng *et al.*(62) reportou uma redução de Bacteroidetes e Firmicutes e um aumento de Proteobacteria em doentes tratados cirurgicamente por CCR, em comparação com o grupo de controlo de indivíduos saudáveis. Existe uma redução das bactérias anaeróbias, como o *Clostridium*, *Bacteroides*, *Prevotella* e *Bifidobacterium* e um aumento dos *Enterococcus*, *Staphylococcus* e *Pseudomonas* após cirurgia (tabela 2).(8,10)

A bactéria mais frequentemente associada à progressão do CCR, especialmente na progressão do adenoma, é a *Fusobacterium nucleatum*.(8,75-77) Esta bactéria contribui para tumorigénese, através de vários mecanismos, mas sobretudo através da ligação da

proteína Fad-A à E-caderina e pela ativação da via da B-catenina.(8,77,78) Atualmente, a sua abundância está correlacionada com outros resultados desfavoráveis, que incluem a redução da sobrevida global, um maior tamanho tumoral, um estadio neoplásico mais avançado, um aumento da invasão local e ocorrência de metástases linfáticas, ou seja, está associada a um pior prognóstico.(8)

Um pior prognóstico e a possibilidade de invasão metastática pode ter como fator preditivo os níveis elevados de interleucina 17 (IL-17) e a inibição dos linfócitos T auxiliares.(8) Curiosamente, a *F. nucleatum* tem sido indicada como um fator causador destas alterações, sugerindo o envolvimento da imunidade do hospedeiro e da interação da microbiota, na modulação do prognóstico nos pacientes com cancro colorretal.(8,75)

Para além desta bactéria, também a *Bacteroides fragilis*, através da *Enterotoxigenic B. fragilis* (ETBF), está relacionada com uma menor sobrevida global.(8,10,75) Já a *Bifidobacterium*, atua como um probiótico protetor, promovendo a homeostasia epitelial intestinal.(8,10,75)

Tabela 2-Composição da microbiota intestinal em indivíduos saudáveis, em pacientes com neoplasia colorretal antes e após cirurgia. ↑: Grande abundância; ↓: Pequena abundância; pks+: poliketido sintase positiva. Adaptado de (10).

Saudáveis	Com carcinoma colorretal	Após colectomia
Bacteroidetes	↑ <i>Staphylococcaceae</i>	↑ Proteobacteria, ↑ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Firmicutes, ↑ <i>Lachnospiraceae</i> ↑ <i>Clostridium</i>	↑ <i>Coriobacteridae</i> , ↑ <i>Fusobacterium nucleatum</i>	↓ Bacteroidetes, ↓ <i>Bacteroides ovatus</i> , ↓ <i>Prevotella</i>
↑ <i>Bifidobacterium</i> ↓ <i>Fusobacterium nucleatum</i>	↑ <i>Enterococcus faecalis</i> , ↑ <i>Bacteroides fragilis</i>	↓ Firmicutes, ↓ <i>Clostridium</i> , ↑ <i>Enterococcus</i> , ↑ <i>Staphylococcus</i>
	↑ <i>Escherichia coli</i> pks	↓ <i>Bifidobacterium</i>
	↓ <i>Bacteroides ovatus</i>	
	↓ <i>Bifidobacterium</i>	
	↓ <i>Lactobacillus</i>	
	↓ <i>Treponema</i>	

A microbiota dos doentes que sofreram recorrência é diferente da microbiota dos pacientes logo após a cirurgia.(8) Estes resultados permitem correlacionar as alterações com o prognóstico da neoplasia, indicando um potencial valor preditivo e preventivo do microbioma como indicador de recorrência neoplásica.(8)

O crescimento de um “patobioma”, após supressão do microbioma comensal, pode resultar num aumento de inflamação e implantação de células tumorais no tecido anastomótico.(8) A presença deste “patobioma”, nomeadamente através da *E. faecalis* e da *P. aeruginosa*, especialmente após deiscência anastomótica, contribui para a inflamação desse local, com degradação do colagénio pela MMP-9.(8) A presença de elevados níveis das metaloproteinasas demonstraram ser indicativas de invasão tumoral e de pior prognóstico nos doentes com CCR.(8–10,34)

5.2.4. Sobrecrescimento bacteriano e fúngico no intestino delgado

O sobrecrescimento bacteriano no intestino delgado (SIBO) é caracterizado por dor, distensão abdominal, flatulência e diarreia, em conjunto com um aumento do número de bactérias no intestino delgado.(79) Sob condições normais, vários fatores impedem a colonização bacteriana neste local do intestino, como a normal motilidade intestinal, acidez gástrica, secreção de muco, ácidos biliares e as imunoglobulinas luminais.(68) A válvula ileocecal também é uma importante barreira anatómica entre o íleo e o cego, prevenindo o refluxo do conteúdo colónico.(68,80) Condições que alterem a normal função gástrica e intestinal podem predispor a SIBO, como o uso de opioides, que inibem a motilidade, gastrite atrófica, esclerodermia e o uso de inibidores da bomba de prótons (IBPs).(68)

Tipicamente a fermentação dos hidratos de carbono da dieta e a desconjugação dos ácidos biliares ocorre no cólon.(68) Quando se realiza uma colectomia com anastomose ileocólica, ocorre alguma translocação bacteriana para o intestino delgado, permitindo que a desconjugação ocorra prematuramente, causando sintomas como distensão abdominal, aumento de gás nas ansas do delgado e diarreia osmótica, com impacto significativo na qualidade de vida dos indivíduos.(68,80) A gestão desta sintomatologia é um desafio que acarreta custos significativos e expõe os sobreviventes da cirurgia a testes de diagnóstico desnecessários.(68)

Rao *et al.*(68) demonstrou que no grupo dos indivíduos colectomizados, 62% desenvolveram SIBO em comparação com o grupo de controlo. Para além deste facto, encontrou diferenças significativas no microbioma intestinal destes indivíduos, com predominância de bactérias aeróbias e redução das anaeróbias.(68) As culturas duodenais nestes indivíduos, identificaram *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Lactobacillus*.(68)

Contudo, para além do SIBO, parece existir também um sobrecrescimento fúngico no intestino delgado (SIFO), sendo que o fungo mais frequentemente encontrado foi a espécie *candida*.(68) Os fungos podem coexistir e interagir com as bactérias formando biofilmes compostos por estes dois tipos de microrganismos.(68)

Tabela 3- Resultados dos principais estudos sobre alterações metabólicas e risco de doença cardiovascular após colectomia.

Referência	n	População	Intervenção	Resultados
Lin <i>et al</i> , 2019.(69)	498	Análise do registo médico de 165 doentes submetidos a colectomia por CCR primário não metastizado. Destes, 53 fizeram RH e 112 LAR. O grupo de controlo teve 333 participantes.	Comparação dos efeitos metabólicos a longo prazo (seguimento durante 7-10 anos), em doentes com CCR, após colectomia parcial.	Os submetidos a RH, em comparação com o grupo de controlo, tiveram aumento da glicémia em jejum e maior incidência de síndrome metabólico. Nos que realizaram LAR, em comparação com o grupo de controlo, não se observaram diferenças significativas.
Jensen <i>et al</i> ,2018.(70)	740389	Análise do registo médico de 3793 doentes submetidos a colectomia total, 10989 a RH, 673 a ressecção do colon transverso, 2513 a LH, 13927 a sigmoidectomia e 14384 a proctectomia. O grupo de controlo foi composto por 694110 doentes submetidos a outros tipos de cirurgias, que não envolveram o trato gastrointestinal.	Comparação da incidência de diabetes mellitus tipo 2 entre os vários tipos de colectomia e o grupo de controlo. O motivo da colectomia podia ser ou não neoplásico.	Observou-se maior risco de desenvolvimento de diabetes nos doentes colectomizados. O risco foi superior na LH, enquanto a ressecção do reto não modificou o risco. Não houve diferença de resultados entre os doentes submetidos a cirurgia por CCR ou por outra doença intestinal.
Wu <i>et al</i> , 2020.(71)	36848	Análise do registo médico de 18424 doentes sujeitos a colectomia e de 18424 não colectomizados. Ambos os grupos foram comparados sem diferenças demográficas nem de comorbilidades.	Avaliar o impacto da colectomia no risco cardiovascular, em doentes sem CCR.	Doentes sujeitos a RH e ressecção do cego tiveram um menor risco cardiovascular a longo prazo, em comparação com o grupo de controlo. A LH esteve associada a aumento do risco cardiovascular.
Jensen <i>et al</i> , 2015.(73)	24480	Análise do registo médico de 1530 doentes submetidos a colectomia. Destes, 791 tinham doença inflamatória intestinal (DII) e 531 CCR. O grupo de controlo, com 22950 indivíduos, foi composto por doentes submetidos a outro tipo de cirurgias.	Avaliar o impacto da colectomia total no risco cardiovascular dos doentes.	Aumento da mortalidade por todas as causas no grupo pós-colectomia. Os sobreviventes tiveram uma redução insignificante de risco CV, quando comparados com o controlo, 25,8% e 28,6%, respetivamente. O risco de doença hipertensiva é significativamente reduzido no grupo da colectomia.

6. O papel dos agentes moduladores do microbioma

Considerando a atual evidência acerca do papel do microbioma intestinal na patologia, não surpreende que a capacidade de modular seja encarada como um novo alvo terapêutico.(43) A modificação da microbiota pode ser realizada com recurso a agentes moduladores do microbioma, como os probióticos e o transplante de microbiota fecal (TMF).(43,75)

Os probióticos são microrganismos vivos, que quando são administrados conferem benefício para a saúde do hospedeiro, tendo como local de ação primário o cólon.(43) Por outro lado, os prebióticos, são componentes alimentares não digeríveis, com capacidade de modular o microbioma.(43) Os simbióticos são a combinação dos últimos dois.(57,81–83) Os probióticos são capazes de manter a função da barreira intestinal, através da capacidade de restaurar a sua permeabilidade e de regular a libertação de citocinas inflamatórias, mantendo a homeostasia do microbioma.(57,81–84) Como tal, tem sido extensamente estudado o seu papel coadjuvante na cirurgia colorretal, com foco na relação entre a sua administração e os resultados da cirurgia abdominal. (9,57,81–83). Os simbióticos estimulam positivamente o sistema imune inato, preservando o rácio de *Lactobacillus spp.* para *Bifidobacteria* e *Enterobacteriaceae spp.*, não tendo sido relatados efeitos adversos graves resultantes do seu uso, exceto em doentes imunodeprimidos com neutropenia, em que é necessário ter alguma cautela. (57,81,85)

No campo da cirurgia gastrointestinal, os probióticos são efetivos em restaurar a diversidade microbiana, em melhorar a resposta imunológica e em reduzir inflamação pós-cirúrgica, contribuindo desta forma, para aumentar a qualidade de vida dos pacientes.(9,83) A sua utilização diminui o tempo de permanência hospitalar, o número de dias em que é necessário suporte ventilatório, o tempo de permanência nos cuidados intensivos e as complicações por infeção no período pós-operatório.(9,83)

Os probióticos têm, portanto, demonstrado efeitos anti-inflamatórios e capacidade de antagonizar o crescimento de bactérias patogénicas, como a *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *E. coli*, sendo que os mais utilizados são os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium spp.*(57) A sua administração profilática, no período perioperatório, é capaz de melhorar a integridade da barreira intestinal, facilitando o retorno ao normal funcionamento da motilidade, reduzindo a ocorrência de ileus.(83,86) De acordo com Agnes *et al.*(57), o uso de probióticos e simbióticos reduziu para metade o risco do desenvolvimento de infeções pós-cirúrgicas, sendo que o ganho foi maior no grupo que usou simbióticos de várias estirpes.

No entanto, o uso de um regime único de probióticos não é a chave para todos os indivíduos, dada a complexidade do microbioma individual.(9)

De acordo com Liu *et al.*(86), num estudo realizado com 1146 pacientes, a combinação de probióticos com pelo menos 3 estirpes bacterianas, no mínimo durante 10 dias, foi eficaz a prevenir infeções após cirurgia colorretal, incluindo as infeções do local cirúrgico. No entanto, o mesmo não se aplica quando se usa uma menor combinação de estirpes, o que coincide com a maior parte dos estudos sobre este tema.(86)

Mais recentemente, num outro estudo realizado em 2020 por Park *et al.*(87), o uso de probióticos multi-estirpes, *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* HY8002, *Lactobacillus casei* HY2782 e *Lactobacillus plantarum* HY7712, duas vezes por dia, durante 4 semanas, diminuiu a disfunção intestinal, melhorando a taxa de recuperação pós-operatória. Estes resultados devem-se ao facto dos probióticos serem capazes de otimizar a resposta das células Th1 e das Treg, responsáveis pelo equilíbrio do sistema imune.(87)

Ainda assim, de momento, a *World Gastroenterology Organisation* recomenda apenas, de acordo com as *guidelines* de 2017 (88), o uso de *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum* e *Bifidobacterium longum* 88, na dose de 2.6×10^{14} UFC / dia, em doentes com sépsis pós-cirúrgica associada a cirurgia gastrointestinal eletiva. Este documento faz também uma breve referência ao benefício dos probióticos em doentes com diarreia induzida por radioterapia, comprovando a sua eficácia, mas não referindo ainda quais as estirpes mais apropriadas.(88)

De qualquer forma, o interesse nos probióticos não é apenas na prevenção das complicações cirúrgicas, mas também na prevenção e tratamento das neoplasias.(84,85,89) Estirpes específicas de bactérias podem ser usadas como agentes terapêuticos de neoplasia colorretal, através da libertação de substâncias com capacidade de ativação da vigilância do sistema imunitário.(85) Em relação ao uso destes agentes no CCR, Chen *et al.*(75), afirma que existem várias evidências que suportam o papel protetor dos probióticos. O *Clostridium butyricum* e o *Bacillus subtilis*, que são bactérias produtoras de butirato, conseguem inibir a 1,2-dimetil-hidrazina (DMH), que é indutora de neoplasia colorretal.(75) Para além destes, também os *Lactobacillus casei strain BL23* inibiram a tumorigénese e a disbiose associada à neoplasia.(75) Já as *Bifidobacterium* melhoram a disbiose nos doentes com CCR e impedem o sobrecrecimento bacteriano no intestino delgado.(75)

De acordo com Lu *et al.*(85), estudos *in vitro*, demonstram que os probióticos são capazes de regular a proliferação e induzir apoptose de células neoplásicas. Os probióticos e os seus metabolitos, como o butirato e a piridoxina, demonstraram ter efeito anti-neoplásico (figura 6).(85) Os SCFAs são a fonte energética dos colonócitos, promovendo acidose e

apoptose das células neoplásicas, inibindo igualmente o excesso de formação de ácidos biliares secundários.(85)

Liu *et al.*(90), demonstrou que o uso regular de *L. plantarum*, *L. acidophilus* e *B. longum* em alta dose, durante 16 dias, aumentou a diversidade microbiana em indivíduos com CCR submetidos a colectomia. A combinação de várias estirpes bacterianas teve impacto protetor positivo em certas funções do sistema imunitário.(90) Tendo em conta a complexa fisiopatologia do carcinoma colorretal, diferentes estirpes bacterianas terão efeitos positivos distintos.(85)

Para além dos probióticos, também faz sentido abordar o transplante de microbiota fecal, tendo em conta que também este é capaz de modificar o microbioma.(75,91,92) Este consiste na introdução de fezes de um dador saudável no TGI de um recetor doente, de forma a tratar especificamente uma doença causada por alterações do microbioma intestinal.(54,75,91) Atualmente, o TMF é recomendado apenas no tratamento da infeção recorrente por *Clostridium difficile*.(29,81,91–93) Ainda assim, recentemente, tem sido também investigado o seu papel no tratamento do síndrome metabólico e da colite ulcerosa.(29,81,91–93)

Em suma, os probióticos são bastante atrativos como um possível complemento ao tratamento convencional, tendo em conta o seu baixo custo, em comparação com o elevado custo dos tratamentos oncológicos.(83,89) Acredita-se que está aberto o caminho para a “era dos probióticos”, com o objetivo de restaurar a eubiose intestinal, melhorando os *outcomes* dos doentes colectomizados.(83,89)

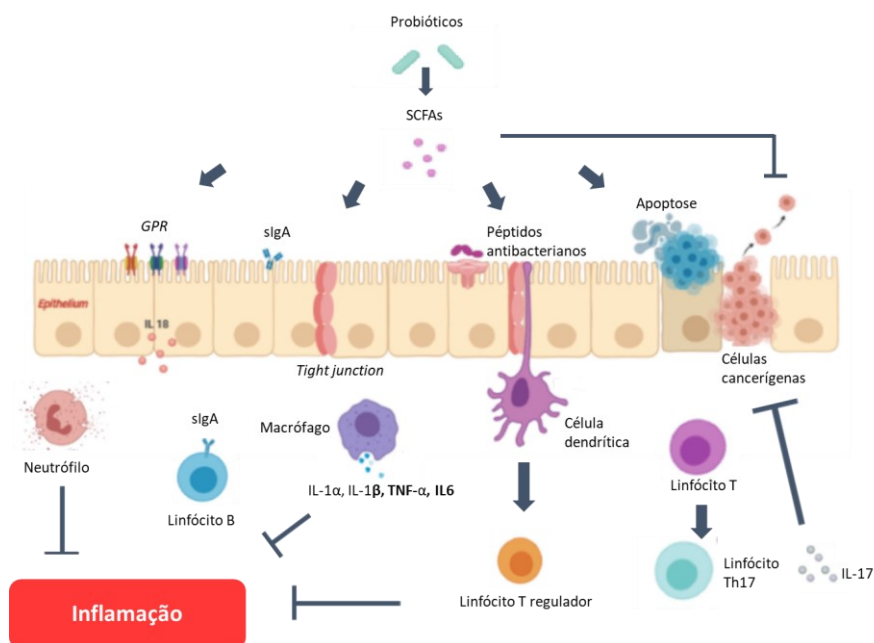


Figura 6- Mecanismo de inibição neoplásica promovido pelos SCFAs.(85)

Microbioma intestinal pós colectomia: que consequências?

7. Conclusão

A perturbação do microbioma é evidente numa vasta quantidade de doenças humanas, que se manifestam não apenas no intestino, mas também de forma sistémica, devido às relações existentes entre os vários eixos, como o microbioma-intestino-cérebro e o intestino-fígado, por exemplo.

Os estudos de sequenciação metagenómica da microbiota intestinal de adultos saudáveis, têm permitido identificar como filos dominantes as Firmicutes e Bacteroidetes e, em menor quantidade, as Actinobacteria, Proteobacteria e Verrucomicrobia. Após a colectomia, estes doentes têm uma menor rede de interações ecológicas, podendo existir também um sobrecrecimento bacteriano no intestino delgado. Para além destas alterações, existem modificações na composição do microbioma após cirurgia ao cólon, que se traduz numa maior abundância do filo Proteobacteria e do género *Klebsiella*. Os procedimentos cirúrgicos resultam num aumento de bactérias patogénicas e numa diminuição de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, que são bactérias que contribuem para a homeostasia do microbioma. A causa para estas alterações parece dever-se ao próprio stress cirúrgico e a fatores perioperatórios, como a limpeza intestinal prévia, o jejum prolongado, a nutrição endovenosa e a administração de fármacos, como os antibióticos e opióides.

Posteriormente à cirurgia, parece existir, de facto, uma relação entre a disrupção do microbioma intestinal e o desenvolvimento de complicações, tanto a curto como longo prazo. A relação bidirecional existente entre o microbioma e o stress cirúrgico, tornou o microbioma um novo fator de risco determinante para o aumento do risco de desenvolvimento de complicações imediatamente após cirurgia, como o surgimento de ileus, aderências, infeções no local da cirurgia e deiscência da anastomose. Pensa-se que este facto esteja relacionado com o aumento da inflamação, com consequente produção de citocinas, assim como pelo stress oxidativo existente. Por outro lado, a longo prazo os resultados são mais contraditórios, pelo que é necessária mais investigação neste âmbito. Embora os resultados dos estudos não sejam claros acerca do tipo de procedimento cirúrgico que aumenta mais o risco de desenvolvimento de complicações metabólicas e cardiovasculares, a verdade é que a colectomia em si não parece ser indiferente quando comparada com os grupos de controlo. Após cirurgia ao cólon, de forma generalizada, o microbioma intestinal fica com uma menor diversidade, estando mais sensível a alterações externas.

Em relação ao papel do microbioma como biomarcador de recidiva de carcinoma colorretal, parece que a deteção precoce *Fusobacterium nucleatum* e *Bacteroides fragilis*

está associada a um pior prognóstico de sobrevivência, enquanto que a presença de *Bifidobacteria* parece ser preventiva da carcinogénese no CCR, por ser capaz de manter a homeostasia epitelial. Este conhecimento poderá, no futuro, ter implicação prática nos doentes com CCR, uma vez que a deteção de *Fusobacterium nucleatum* e *Bacteroides fragilis* poderá permitir abordagens mais agressivas, como o ajuste de quimioterapia adjuvante, ressecção cirúrgica mais radical e uma monitorização de recorrência mais apertada.

Por fim, o uso de probióticos e simbióticos, com uma combinação de várias estirpes, associados a uma dieta adequada, parece ter impacto protetor positivo, por reduzir o risco de desenvolvimento de infeções pós-cirúrgicas, ainda que não haja, para já, orientações formais dos principais reguladores, uma vez que são necessários mais ensaios clínicos em humanos.

7.1. Perspetivas futuras

A modulação do microbioma é um alvo terapêutico viável, com a possibilidade de desenvolvimento de abordagens personalizadas e integradas. A metagenómica tem o potencial de fornecer uma ferramenta para estratificar os indivíduos de acordo com o seu perfil microbiótico, podendo contribuir para identificar bactérias preditoras de doença. A relação de causalidade que se tem vindo a estabelecer entre o microbioma e as complicações pós-cirúrgicas, abrem a possibilidade de tornar o microbioma como um alvo de intervenção preventiva e como um biomarcador precoce de recidiva no carcinoma colorretal.

Atualmente a colonoscopia é o exame mais relevante na gestão do doente com CCR, no entanto, a descoberta de novos biomarcadores de diagnóstico menos invasivos poderão ter uma relevância muito significativa no curso desta neoplasia, nomeadamente com a deteção de níveis elevados de MMP2, MMP9 e de *Fusobacterium nucleatum*. Estas alterações encontradas no *follow-up* de doentes com CCR, poderão ser indicativas de recorrência tumoral, permitindo uma estratificação do risco de recidiva, capaz de modificar a abordagem terapêutica a estes doentes.

O principal objetivo para controlar a disbiose associada à colectomia, deve basear-se em medidas de restituição do equilíbrio microbiano. Embora ainda não seja uma prática clínica habitual, futuramente o objetivo será selecionar uma preparação intestinal e um esquema antibiótico mais personalizado, utilizado durante o menor tempo possível, de modo a selecionar as bactérias patogénicas, permitindo que os membros da microbiota benéfica se mantenham no intestino. Deverá adicionalmente procurar-se outros métodos analgésicos alternativos, para evitar o uso de opioides, dado o seu efeito disruptivo no

microbioma. Para além disso, a aplicação de simbióticos ou probióticos, capazes de modular o microbioma intestinal antes e após a cirurgia, permitirá uma menor redução dos *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, diminuindo conseqüentemente o risco de complicações. Os estudos acerca do papel dos probióticos são bastante promissores, ainda que não haja, de momento, uma orientação formal das principais instituições de gastroenterologia e de cirurgia. No entanto, tudo indica que em breve haja novidades em relação a este tema, com a investigação acerca do microbioma a revolucionar a saúde humana nas próximas décadas.

Microbioma intestinal pós colectomia: que consequências?

8. Bibliografia

1. Aziz Q, Doré J, Emmanuel A, Guarner F, Quigley EMM. Gut microbiota and gastrointestinal health: Current concepts and future directions. *Neurogastroenterol Motil.* 2013;25(1):4–15.
2. Cryan JF, O’riordan KJ, Cowan CSM, Sandhu K V., Bastiaanssen TFS, Boehme M, et al. The microbiota-gut-brain axis. *Physiol Rev.* 2019;99(4):1877–2013.
3. Dalton A, Mermier C, Zuhl M. Exercise influence on the microbiome–gut–brain axis. *Gut Microbes* [Internet]. 2019;10(5):555–68. Available from: <https://doi.org/10.1080/19490976.2018.1562268>
4. Lake JI, Heuckeroth RO. Enteric nervous system development: Migration, differentiation and disease. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol.* 2013;305(1):G1–24.
5. White JR, Dauros-Singorenko P, Hong J, Vanholsbeeck F, Phillips A, Swift S. The role of host molecules in communication with the resident and pathogenic microbiota: A review. *Med Microecol.* 2020;4:100005.
6. Nístal E, Fernández-Fernández N, Vivas S, Olcoz JL. Factors determining colorectal cancer: The role of the intestinal microbiota. *Front Oncol.* 2015;5:220.
7. Cani PD. Human gut microbiome: Hopes, threats and promises. *Gut.* 2018;67(9):1716–25.
8. Koliarakis I, Athanasakis E, Sgantzios M, Mariolis-Sapsakos T, Xynos E, Chrysos E, et al. Intestinal Microbiota in Colorectal Cancer Surgery. *Cancers (Basel).* 2020;12(10):1–23.
9. Stavrou G, Kotzampassi K. Gut microbiome, surgical complications and probiotics. *Ann Gastroenterol.* 2017;30(1):45–53.
10. Bartolini I, Risaliti M, Ringressi MN, Melli F, Nannini G, Amedei A, et al. Role of gut microbiota-immunity axis in patients undergoing surgery for colorectal cancer: Focus on short and long-term outcomes. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2020;26(20):2498–513. Available from: <https://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v26/i20/2498.htm>
11. Fasano A, Flaherty S. *Gut Feelings: The Microbiome and Our Health.* Cambridge, Massachusetts: The MIT Press; 2021. 407 p.
12. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès MCC, Charles T, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome.* 2020;8:103.

13. Angers A, Kagkli DM, Patak Dennstedt A, Petrillo M, Querci M, Rüdelsheim P, et al. The Human Gut Microbiota: Overview and analysis of the current scientific knowledge and possible impact on healthcare and well-being [Internet]. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2018. Available from: <https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC112042>
14. Khanna S, Tosh PK. A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clin Proc* [Internet]. 2014;89(1):107–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.10.011>
15. Ishiguro E, Haskey N, Campbell K. *Gut Microbiota: Interactive Effects on Nutrition and Health*. 1st ed. Academic Press; 2018. 208 p.
16. Forbes JD, Van Domselaar G, Bernstein CN. The Gut Microbiota in Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *Front Microbiol*. 2016;7:1081.
17. Beale DJ, Kouremenos KA, Palombo EA. *Microbial Metabolomics: Applications in Clinical, Environmental and Industrial Microbiology*. 1st ed. Switzerland: Springer International Publishing; 2016. 324 p.
18. Schnorr SL, Sankaranarayanan K, Lewis CMJ, Warinner C. Insights into human evolution from ancient and contemporary microbiome studies. *Curr Opin Genet Dev*. 2016;41:14–26.
19. Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector TD. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ*. 2018;361:k2179.
20. Tang Q, Jin G, Wang G, Liu T, Liu X, Wang B, et al. Current Sampling Methods for Gut Microbiota: A Call for More Precise Devices. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10(4):151.
21. Tropini C, Earle KA, Huang KC, Sonnenburg JL. The Gut Microbiome: Connecting Spatial Organization to Function. *Cell Host Microbe* [Internet]. 2017;21(4):433–42. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2017.03.010>
22. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*. 2017;474(11):1823–36.
23. Aleman FDD, Valenzano DR. Microbiome evolution during host aging. *PLOS Pathog*. 2019;15(7):e1007727.
24. Gillings MR, Paulsen IT, Tetu SG. Ecology and evolution of the human microbiota: Fire, farming and antibiotics. *Genes (Basel)*. 2015;6(3):841–57.
25. Ege MJ. The hygiene hypothesis in the age of the microbiome. *Ann Am Thorac Soc*. 2017;14(Supplement_5):S348–53.
26. Davenport ER, Sanders JG, Song SJ, Amato KR, Clark AG, Knight R. The human microbiome in evolution. *BMC Biol*. 2017;15:127.

27. Andrews P, Johnson RJ. Evolutionary basis for the human diet: consequences for human health. *J Intern Med*. 2020;287(3):226–37.
28. Scott AJ, Alexander JL, Merrifield CA, Cunningham D, Jobin C, Brown R, et al. International Cancer Microbiome Consortium consensus statement on the role of the human microbiome in carcinogenesis. *Gut*. 2019;68(9):1624–32.
29. Power SE, O’Toole PW, Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF. Intestinal microbiota, diet and health. *Br J Nutr*. 2014;111(3):387–402.
30. Dong TS, Gupta A. Influence of Early Life, Diet, and the Environment on the microbiome. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(2):231–42.
31. Mármol I, Sánchez-de-Diego C, Dieste AP, Cerrada E, Yoldi MJR. Colorectal carcinoma: A General Overview and Future Perspectives in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*. 2017;18(1):197.
32. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biol*. 2016;14(8):e1002533.
33. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med [Internet]*. 2016;8:51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13073-016-0307-y>
34. Bachmann R, Leonard D, Delzenne N, Kartheuser A, Cani PD. Novel insight into the role of microbiota in colorectal surgery. *Gut*. 2017;66(4):738–49.
35. Karl PJ, Hatch AM, Arcidiacono SM, Pearce SC, Pantoja-Feliciano IG, Doherty LA, et al. Effects of Psychological, Environmental and Physical Stressors on the Gut Microbiota. *Front Microbiol*. 2018;9:2013.
36. Sun J, Kato I. Gut microbiota, inflammation and colorectal cancer. *Genes Dis [Internet]*. 2016;3(2):130–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gendis.2016.03.004>
37. Burns MB, Lynch J, Starr TK, Knights D, Blekhman R. Virulence genes are a signature of the microbiome in the colorectal tumor microenvironment. *Genome Med [Internet]*. 2015;7(1):55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13073-015-0177-8>
38. Picardo SL, Coburn B, Hansen AR. The microbiome and cancer for clinicians. *Crit Rev Oncol Hematol [Internet]*. 2019;141:1–12. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2019.06.004>
39. King CH, Desai H, Sylvestsky AC, LoTempio J, Ayanyan S, Carrie J, et al. Baseline human gut microbiota profile in healthy people and standard reporting template. *PLoS One*. 2019;14(9):e0206484.

40. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiaro GAD, Gasbarrini A, et al. What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet and diseases. *Microorganisms*. 2019;7(1):14.
41. Marchesi JR. *The Human Microbiota and Microbiome*. Cardiff University, UK: CABI Publishing; 2014. 208p.
42. Royston KJ, Adedokun B, Olopade OI. Race, the microbiome and colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol*. 2019;11(10):773–87.
43. Long-Smith C, O’Riordan KJ, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF. Microbiota-Gut-Brain Axis: New Therapeutic Opportunities. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2020;60(1):477–502.
44. O’Keefe SJD. Diet, microorganisms and their metabolites and colon cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13(12):691–706.
45. Rutsch A, Kantsjö JB, Ronchi F. The Gut-Brain Axis: How Microbiota and Host Inflammasome Influence Brain Physiology and Pathology. *Front Immunol*. 2020;11(December):1–24.
46. Cryan JF, Dinan TG. Mind-altering microorganisms: The impact of the gut microbiota on brain and behaviour. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2012;13(10):701–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3346>
47. Martin CR, Osadchiy V, Kalani A, Mayer EA. The Brain-Gut-Microbiome Axis. *Cmgh* [Internet]. 2018;6:133–48. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2018.04.003>
48. Yarandi SS, Peterson DA, Treisman GJ, Moran TH, Pasricha PJ. Modulatory effects of gut microbiota on the central nervous system: How gut could play a role in neuropsychiatric health and diseases. *J Neurogastroenterol Motil*. 2016;22(2):201–12.
49. Marchix J, Goddard G, Helmrath MA. Host-Gut Microbiota Crosstalk in Intestinal Adaptation. *Cmgh* [Internet]. 2018;6(2):149–62. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2018.01.024>
50. Osadchiy V, Martin CR, Mayer EA. The Gut–Brain Axis and the Microbiome: Mechanisms and Clinical Implications. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(2):322–32.
51. Li D, Gao C, Zhang F, Yang R, Lan C, Ma Y, et al. Seven facts and five initiatives for gut microbiome research. *Protein Cell* [Internet]. 2020;11(6):391–400. Available from: <https://doi.org/10.1007/s13238-020-00697-8>
52. Anwar H, Irfan S, Hussain G, Faisal M, Muzaffar H, Mustafa I, et al. Gut Microbiome: A New Organ System in Body. *Parasitol Microbiol Res* [Internet]. 2019; Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/69898>

53. Durack J, Lynch S V. The gut microbiome: Relationships with disease and opportunities for therapy. *J Exp Med*. 2019;216(1):20–40.
54. Butler MI, Mörkl S, Sandhu K V., Cryan JF, Dinan TG. The Gut Microbiome and Mental Health: What Should We Tell Our Patients?: Le microbiote Intestinal et la Santé Mentale: que Devrions-Nous dire à nos Patients? *Can J Psychiatry*. 2019;64(11):747–60.
55. Ogunrinola GA, Oyewale JO, Oshamika OO, Olasehinde GI. The Human Microbiome and Its Impacts on Health. *Int J Microbiol*. 2020;2020:1–7.
56. WHO. The Global Cancer Observatory 2020- Portugal [Internet]. 2021. Available from: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/620-portugal-factsheets.pdf>
57. Agnes A, Puccioni C, D’Ugo D, Gasbarrini A, Biondi A, Persiani R. The gut microbiota and colorectal surgery outcomes: facts or hype? A narrative review. *BMC Surg* [Internet]. 2021;21(1):83. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12893-021-01087-5>
58. Fang X, Vázquez-Baeza Y, Elijah E, Vargas F, Ackermann G, Humphrey G, et al. Gastrointestinal Surgery for Inflammatory Bowel Disease Persistently Lowers Microbiome and Metabolome Diversity. *Inflamm Bowel Dis*. 2021;27(5):603–16.
59. Cong J, Zhu H, Liu D, Li T, Zhang C, Zhu J, et al. A pilot study: Changes of gut microbiota in post-surgery colorectal cancer patients. *Front Microbiol*. 2018;9:2777.
60. Ohigashi S, Sudo K, Kobayashi D, Takahashi T, Nomoto K, Onodera H. Significant Changes in the Intestinal Environment After Surgery in Patients with Colorectal Cancer. *J Gastrointest Surg*. 2013;17(9):1657–64.
61. Lederer AK, Pisarski P, Kousoulas L, Fichtner-Feigl S, Hess C, Huber R. Postoperative changes of the microbiome: Are surgical complications related to the gut flora? A systematic review. *BMC Surg*. 2017;17:125.
62. Deng X, Li Z, Li G, Li B, Jin X, Lyu G. Comparison of microbiota in patients treated by surgery or chemotherapy by 16S rRNA sequencing reveals potential biomarkers for colorectal cancer therapy. *Front Microbiol*. 2018;9:1607.
63. Kong C, Gao R, Yan X, Huang L, He J, Li H, et al. Alterations in intestinal microbiota of colorectal cancer patients receiving radical surgery combined with adjuvant CapeOx therapy. *Sci China Life Sci*. 2019;62(9):1178–93.
64. Attaye I, Pinto-Sietsma SJ, Herrema H, Nieuwdorp M. A Crucial Role for Diet in the Relationship between Gut Microbiota and Cardiometabolic Disease. *Annu Rev Med*. 2020;71:149–61.

65. Alverdy JC. Microbiome Medicine: This Changes Everything. *J Am Coll Surg* [Internet]. 2018;226(5):719–29. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2018.02.004>
66. Nagata N, Tohya M, Fukuda S, Suda W, Nishijima S, Takeuchi F, et al. Effects of bowel preparation on the human gut microbiome and metabolome. *Sci Rep*. 2019;9(1):4042.
67. Drago L, Toscano M, De Grandi R, Casini V, Pace F. Persisting changes of intestinal microbiota after bowel lavage and colonoscopy. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2016;28(5):532–7.
68. Rao SSC, Tan G, Abdulla H, Yu S, Larion S, Leelasinjaroen P. Does colectomy predispose to small intestinal bacterial (SIBO) and fungal overgrowth (SIFO)? *Clin Transl Gastroenterol*. 2018;9(4):146.
69. Lin XH, Jiang JK, Luo JC, Lin CC, Ting PH, Yang UC, et al. The long term microbiota and metabolic status in patients with colorectal cancer after curative colon surgery. *PLoS One*. 2019;14(6):1–14.
70. Jensen AB, Sørensen TIA, Pedersen O, Jess T, Brunak S, Allin KH. Increase in clinically recorded type 2 diabetes after colectomy. *Elife*. 2018;7:e37420.
71. Wu CC, Hsu TW, Yeh CC, Lee CH, Lin MC, Chang CM. The impact of colectomy on the risk of cardiovascular disease among patients without colorectal cancer. *Sci Rep*. 2020;10(1):2925.
72. Tang WHW, Landmesser U, Hazen SL. Microbiota intestinal na saúde e doença cardiovascular. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(16):2089–105.
73. Jensen AB, Ajslev TA, Brunak S, Sørensen T. Long-term risk of cardiovascular and cerebrovascular disease after removal of the colonic microbiota by colectomy: A cohort study based on the Danish National Patient Register from 1996 to 2014. *BMJ Open*. 2015;5(12):e008702.
74. Gaines S, Van Praagh JB, Williamson AJ, Jacobson RA. Western Diet Promotes Intestinal Colonization by Collagenolytic Microbes and Promotes Tumor Formation After Colorectal Surgery. *Gastroenterology*. 2020;158(4):958–970.e2.
75. Chen D, Wu J, Jin D, Wang B, Cao H. Fecal microbiota transplantation in cancer management: Current status and perspectives. *Int J Cancer*. 2019;145(8):2021–31.
76. Tomkovich S, Dejea CM, Winglee K, Drewes JL, Chung L, Housseau F, et al. Human colon mucosal biofilms from healthy or colon cancer hosts are carcinogenic. *J Clin Invest*. 2019;129(4):1699–712.
77. Tilg H, Adolph TE, Gerner RR, Moschen AR. The Intestinal Microbiota in Colorectal Cancer. *Cancer Cell* [Internet]. 2018;33(6):954–64. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.004>

78. Saus E, Iraola-Guzmán S, Willis JR, Brunet-Vega A, Gabaldón T. Microbiome and colorectal cancer: Roles in carcinogenesis and clinical potential. *Mol Aspects Med* [Internet]. 2019;69:93–106. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2019.05.001>
79. Kastl AJ, Terry NA, Wu GD, Albenberg LG. The Structure and Function of the Human Small Intestinal Microbiota: Current Understanding and Future Directions. *Cmgh* [Internet]. 2020;9(1):33–45. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2019.07.006>
80. Bhagat W J, Rao SC S. Small Intestinal Bacterial Overgrowth following Subtotal Colectomy for Colon Cancer. *Color Cancer Open Access*. 2017;03(02):5–8.
81. Nibali L, Henderson B. *The Human Microbiota and Chronic Disease: Dysbiosis as a Cause of Human Pathology*. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, inc.; 2016. 559 p.
82. Hyland N, Stanton C. *The Gut-Brain Axis: Dietary, Probiotic, and Prebiotic Interventions on the Microbiota*. 1st ed. Academic Press; 2016. 508 p.
83. Kvasnovsky CL, Bjarnason I, Papagrigroriadis S. What colorectal surgeons should know about probiotics: A review. *Color Dis*. 2015;17(10):840–8.
84. Eslami M, Yousefi B, Kokhaei P, Hemati M, Nejad ZR, Arabkari V, et al. Importance of probiotics in the prevention and treatment of colorectal cancer. *J Cell Physiol*. 2019;234(10):17127–43.
85. Lu K, Dong S, Wu X, Jin R, Chen H. Probiotics in Cancer. *Front Oncol*. 2021;11:638148.
86. Liu PC, Yan YK, Ma YJ, Wang XW, Geng J, Wang MC, et al. Probiotics Reduce Postoperative Infections in Patients Undergoing Colorectal Surgery: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gastroenterol Res Pract*. 2017;2017:6029075.
87. Park IJ, Lee JH, Kye BH, Oh HK, Cho YB, Kim YT, et al. Effects of probiotics on the symptoms and surgical outcomes after anterior resection of colon cancer (Postcare): A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Med*. 2020;9(7):2181.
88. Guarner F, Sanders ME, Eliakim R, Fedorak R, Gangl A, Garisch J, et al. *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: Probiotics and prebiotics* [Internet]. World Gastroenterology Organisation. 2017. Available from: <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-english>
89. Drago L. Probiotics and colon cancer. *Microorganisms*. 2019;7(3):66.

90. Liu Z, Qin H, Yang Z, Xia Y, Liu W, Yang J, et al. Randomised clinical trial: The effects of perioperative probiotic treatment on barrier function and post-operative infectious complications in colorectal cancer surgery - A double-blind study. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011;33(1):50–63.
91. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajilić-Stojanović M, Kump P, Satokari R, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut.* 2017;66(4):569–80.
92. König J, Siebenhaar A, Högenauer C, Arkkila P, Nieuwdorp M, Norén T, et al. Consensus report: faecal microbiota transfer – clinical applications and procedures. *Aliment Pharmacol Ther.* 2017;45(2):222–39.
93. Cheng YW, Phelps E, Nemes S, Rogers N, Sagi S, Bohm M, et al. Fecal Microbiota Transplant Decreases Mortality in Patients with Refractory Severe or Fulminant *Clostridioides difficile* Infection. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2020;18(10):2234-2243.e1. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2019.12.029>