



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências da Saúde

Papel da Microbiota nas Doenças Digestivas

Gisela da Silva Andrade

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Medicina

(ciclo de estudos integrado)

Orientador: Doutor Eduardo Pereira

Covilhã, maio de 2015

Agradecimentos

À Universidade da Beira Interior e à Faculdade de Ciências da Saúde, pela formação científica e pessoal de excelência.

Ao Doutor Eduardo Pereira, pelo conhecimento transmitido, disponibilidade, apoio e simpatia.

Aos meus pais, pelo amor com que enchem a minha vida.

Ao Carlos, por fazer deste percurso algo especial.

Aos meus amigos, pelos sorrisos e pelo apoio.

Resumo

Introdução: O trato gastrointestinal é colonizado por um grande número de microrganismos, coletivamente chamado de microbiota. O organismo humano estabelece com a microbiota entérica uma dinâmica relação essencial à sua homeostasia. Na última década tem-se assistido a um aumento do conhecimento sobre a microbiota, que levou ao surgimento da hipótese de que um estado de disbiose poderá favorecer o aparecimento de várias doenças gastrointestinais.

Objetivos: Com esta revisão bibliográfica pretendo caracterizar a constituição e funções da microbiota intestinal, compreender a relação simbiótica estabelecida entre a microbiota e o trato gastrointestinal e estudar a influência da microbiota intestinal na etiopatogenia da síndrome do intestino irritável e doença inflamatória intestinal.

Materiais e métodos: Para a elaboração deste trabalho foi realizada uma alargada pesquisa bibliográfica de artigos científicos nas bases de dados Pubmed, B-on e Medscape, bem como nos livros “Sleisenger and Fordtran’s Gastrointestinal and Liver Disease” e “Tratado de neurogastroenterología y motilidad digestiva”.

Desenvolvimento: A microbiota intestinal, composta maioritariamente por bactérias, é única em cada indivíduo e modulada ao longo de toda a vida por fatores como a dieta e genética. Os microrganismos são, também, uma fonte constante de sinais regulatórios positivos para o hospedeiro, com importantes funções metabólicas, tróficas e defensivas.

Várias investigações científicas têm encontrado, de forma consistente, alterações qualitativas e quantitativas da microbiota gastrointestinal na síndrome do intestino irritável e doença inflamatória intestinal. Há, igualmente, evidência de um estado simultâneo de inflamação e desregulação imunitária, o que se encontra de acordo com a estreita relação da microbiota com o sistema imunitário.

Conclusão: Alterações na composição e função da microbiota gastrointestinal têm um impacto direto na saúde humana e poderão desempenhar um papel importante na etiopatogenia de várias doenças gastrointestinais. No entanto, muitas das questões básicas acerca do seu papel permanecem ainda por responder. Uma melhor compreensão poderá melhorar muitos aspetos da vida diária de doentes através da otimização terapêutica.

Palavras-chave

Microbiota, síndrome do intestino irritável, doença inflamatória intestinal, bactérias, trato gastrointestinal

Abstract

Introduction: The gastrointestinal tract is colonized by a wide quantity of microorganisms, collectively called microbiota. The human organism establishes with the enteric microbiota a dynamic relationship essential to its homeostasis. In the last decade there has been an increase of knowledge about the microbiota, which led to the emergence of the hypothesis that a change in the composition or function of the microbiota may increase the incidence of numerous gastrointestinal diseases.

Objectives: This literature review aims to characterize the constitution and function of the intestinal microbiota, to understand the symbiotic relationship established between the microbiota and the gastrointestinal tract and to study the influence of intestinal microbiota in the etiopathogenesis of irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease.

Materials and methods: To prepare this work, an extensive literature review of scientific articles through the medical search engines Pubmed, B-on and Medscape was held, as well as in the books "Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease" and "Tratado de neurogastroenterología y motilidad digestiva".

Development: The intestinal microbiota comprises mainly bacteria, it is unique for each individual and it is modulated throughout life by factors such as diet and genetics. Microorganisms are also a constant source of positive regulatory signals to the host, with important metabolic, trophic and defensive functions.

Several scientific investigations have found consistent qualitative and quantitative changes in the gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease. There is also evidence of a simultaneous state of inflammation and immune dysregulation, which is in accordance with the close relationship of the microbiota to the immune system.

Conclusion: Changes in the composition and function of the gastrointestinal microbiota have a direct impact on human health and may play an important role in the pathogenesis of various gastrointestinal diseases. However, many of the basic questions about their role still remain unanswered. A better understanding could improve many aspects of daily life of patients through therapeutic optimization.

Key-words

Microbiota, irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease, bacteria, gastrointestinal tract

Índice

Agradecimentos	iii
Resumo	iv
Palavras-chave	iv
Abstract.....	v
Key-words	v
Índice	vi
Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tabelas.....	ix
Lista de Acrónimos.....	x
1. Introdução	1
2. Objetivos.....	2
3. Materiais e Métodos	3
4. A Microbiota na Saúde	4
4.1. Metodologias de estudo da microbiota	4
4.2. Composição da microbiota intestinal humana	4
4.3. Fatores moduladores da composição da microbiota	6
4.3.1. Parto e exposição pós-natal	6
4.3.2. Idade.....	7
4.3.3. Dieta	7
4.3.4. Genética	7
4.4. Funções da microbiota	8
4.4.1. Funções metabólicas.....	9
4.4.2. Funções tróficas	9
4.4.3. Funções defensivas.....	10
4.5. Interação da microbiota com o sistema imunitário	11
5. A Microbiota na Doença	12
5.1. Síndrome do intestino irritável	12
5.1.2. Disbiose da microbiota intestinal.....	13
5.1.3. Sobrecrescimento bacteriano do intestino delgado	14
5.1.4. Inflamação e imunidade.....	15
5.1.5. Alteração da atividade metabólica bacteriana.....	16
5.1.6. Efeito dos probióticos, prebióticos e antibióticos na SII	17
5.2. Doença inflamatória intestinal	19

5.2.1. Disbiose da microbiota intestinal	19
5.2.2. Genética e imunidade	20
5.2.3. Outras evidências sugestivas do papel da microbiota na DII.....	21
6. Conclusão	23
7. Bibliografia	25

Lista de Figuras

Figura 1. Composição e quantidade das espécies microbianas dominantes no trato gastrointestinal.

Figura 2. Fatores moduladores das características da microbiota.

Figura 3. Funções da microbiota intestinal humana.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Principais evidências que suportam o papel da microbiota entérica na etiopatogenia da síndrome do intestino irritável.

Tabela 2. Principais evidências que suportam o papel da microbiota entérica na etiopatogenia da doença inflamatória intestinal.

Lista de Acrónimos

ACGG	Ácidos gordos de cadeia curta
CU	Colite ulcerosa
DC	Doença de Crohn
DII	Doença inflamatória intestinal
DMB	Dipéptidos muramil bacterianos
FNT	Fator de necrose tumoral
FODMAP	Oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis fermentáveis
IL	Interleucina
MALT	Tecido linfóide associado à mucosa
NOD2	Proteína 2 de domínio de oligomerização de nucleótidos
OR	Odds ratio
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PNU	Polimorfismo de nucleótido único
RRP	Recetores de reconhecimento padrão
SBID	Sobrecrescimento bacteriano do intestino delgado
SII	Síndrome do intestino irritável
SII-C	Síndrome do intestino irritável com predominância de obstipação
SII-D	Síndrome do intestino irritável com predominância de diarreia
SII-M	Síndrome do intestino irritável com características mistas
TLR	Toll-like receptor
Treg	Células T reguladoras
UFC	Unidade formadora de colónias

1. Introdução

O corpo humano é habitado por um complexo ecossistema metabolicamente ativo de microrganismos, que no seu conjunto é denominado microbiota. O trato gastrointestinal alberga em média 100 trilhões de microrganismos, número 10 vezes superior à quantidade de células do corpo humano. (1) Deste modo, o sistema digestivo aloja 70% de toda a microbiota presente no corpo humano. (2) A maioria pertence ao domínio das bactérias, ainda que sejam também encontrados em menores quantidades outros seres vivos, como vírus e eucariontes. (3)

A microbiota gastrointestinal estabelece uma relação dinâmica de simbiose com o organismo humano, exercendo funções biológicas essenciais à digestão e absorção de nutrientes, metabolismo energético humano, imunocompetência e tolerância. Deste modo, a microbiota pode ser considerada como um importante órgão. (4)

Cada ser vivo possui o seu próprio material genético, designando-se microbioma ao conjunto do genoma pertencente a estes microrganismos. (3) Existem no trato gastrointestinal mais de 1000 espécies bacterianas, as quais possuem no seu conjunto 100 vezes mais material genético que o genoma humano. (5) O organismo humano, juntamente com a microbiota, pode ser visto assim como um superorganismo, composto por células humanas e microbianas, bem como possuidor de um segundo genoma - o microbioma. (3)

Na última década, tem-se assistido a um considerável aumento do conhecimento acerca da microbiota, em grande parte pela evolução da metagenómica, isto é, o estudo de material genético retirado diretamente de amostras ambientais. (2) Isto levou ao surgimento da hipótese de que uma alteração da composição ou função da microbiota poderá favorecer o aparecimento de várias doenças gastrointestinais, das quais se destacam a síndrome do intestino irritável e a doença inflamatória intestinal.

2. Objetivos

A elaboração desta monografia tem como principais propósitos:

1. Caracterização da constituição e funções da microbiota intestinal.
2. Compreensão da relação simbiótica estabelecida entre a microbiota e o trato gastrointestinal e do seu grau de interdependência.
3. Estudo da influência da microbiota intestinal na etiopatogenia da síndrome do intestino irritável e doença inflamatória intestinal.

3. Materiais e Métodos

Foi realizada uma alargada pesquisa bibliográfica de artigos científicos nas bases de dados Pubmed, B-on e Medscape, no intervalo temporal de Julho de 2014 a Março de 2015. Foram utilizadas como principais palavras-chave: “microbiota”, “intestinal diseases”, “dysbiosis”, “gastrointestinal tract”, “gut”, “irritable bowel syndrome” e “inflammatory bowel disease”. Os resultados obtidos foram filtrados, sendo usados apenas os referentes aos últimos cinco anos. Nesta pesquisa foram incluídos artigos de revisão, estudos retrospectivos, prospetivos e experimentais.

No sentido de completar a informação recolhida, recorri ainda aos livros “Sleisenger and Fordtran’s Gastrointestinal and Liver Disease” e “Tratado de neurogastroenterología y motilidad digestiva”.

4. A Microbiota na Saúde

4.1. Metodologias de estudo da microbiota

Na última década, vários estudos científicos têm ajudado a decifrar a composição e funções da microbiota intestinal humana, assim como as suas relações com a saúde e a doença. A metagenômica deve a sua recente evolução em larga escala ao desenvolvimento de técnicas de sequenciamento do DNA de nova geração. Estas permitiram uma aceleração da identificação e quantificação dos organismos altamente complexos que compõem a microbiota intestinal por apresentarem como grande vantagem a independência dos métodos tradicionais de cultura. (3) Fatores limitantes, como o desconhecimento das necessidades nutricionais de determinados subgrupos bacterianos, levava a que a maioria dos microrganismos permanecesse por identificar através da cultura, proporcionando uma visão limitada da diversidade das espécies. (3,6)

O método mais usado consiste na extração do material genético de uma amostra biológica, seguida pela amplificação e sequenciação dos genes que compõem a subunidade 16S do RNA ribossômico. Esta subunidade é comum a todas as bactérias e contém um balanço apropriado de sequências conservadas e variáveis que possibilita a distinção entre diferentes espécies e estirpes. Assim, permite de forma eficaz a caracterização do perfil taxonômico dos microrganismos e a quantificação da sua abundância relativa através da comparação com sequências de referência. (7)

Da vasta investigação científica realizada destacam-se dois projetos feitos em grande escala que permitiram a catalogação do microbioma humano. O projeto MetaHIT estudou a microbiota intestinal de 700 indivíduos, observando a sua intervenção em transtornos metabólicos e na inflamação intestinal. O Projeto do Microbioma Humano estabeleceu a composição da microbiota intestinal humana em 300 indivíduos. (3)

4.2. Composição da microbiota intestinal humana

Apesar do grande número de espécies bacterianas presentes no trato gastrointestinal em adultos saudáveis, 90% da microbiota fecal identificada pode ser classificada em dois filos: Firmicutes e Bacteroidetes. (8) O filo Firmicutes é o mais abundante e diverso do trato gastrointestinal. (9) Os *Bacteroides*, *Faecalibacterium* e *Bifidobacterium* são os géneros dominantes, ainda que a sua abundância relativa seja muito variável de pessoa para pessoa. (3)

À medida que se analisam os estratos taxonômicos mais profundos, como a estirpe e espécie, verifica-se um aumento da diversidade biológica, pelo que se pode considerar que cada indivíduo é anfitrião de um perfil bacteriano único. (10)

Um dos principais resultados do projeto MetaHit foi a descoberta de que a composição da microbiota de cada indivíduo, independentemente das suas características, como a idade, género e índice de massa corporal, pertence a um de três grandes grupos, designados “enterotipos”. Cada um dos enterotipos é identificado com base na abundância de bactérias em relação a três principais géneros: *Bacteroides* (enterotipo 1), *Prevotella* (enterotipo 2) e *Ruminococcus* (enterotipo 3). (11) No entanto, não só não são conhecidos quais os fatores que promovem a agregação das comunidades bacterianas em enterotipos, como muitos autores continuam a considerar como mais provável a existência de uma variação contínua das espécies, pelo que é necessária uma maior investigação científica para a elucidação deste tópico.

O epitélio intestinal encontra-se separado do lúmen pela camada mucosa. A microbiota localizada no lúmen pode encontrar-se dispersa nas fezes líquidas ou ligada a partículas de alimentos e difere significativamente da ligada à camada mucosa, bem como à que se encontra na imediata proximidade do epitélio. (12)

A proporção de bactérias presentes ao longo do trato gastrointestinal apresenta uma grande variação, alcançando desde níveis muito baixos no estômago até conteúdos luminiais de 10^{12} por grama no cólon. (13) Há também uma grande variação da composição das comunidades bacterianas nos vários locais do trato gastrointestinal. (2)

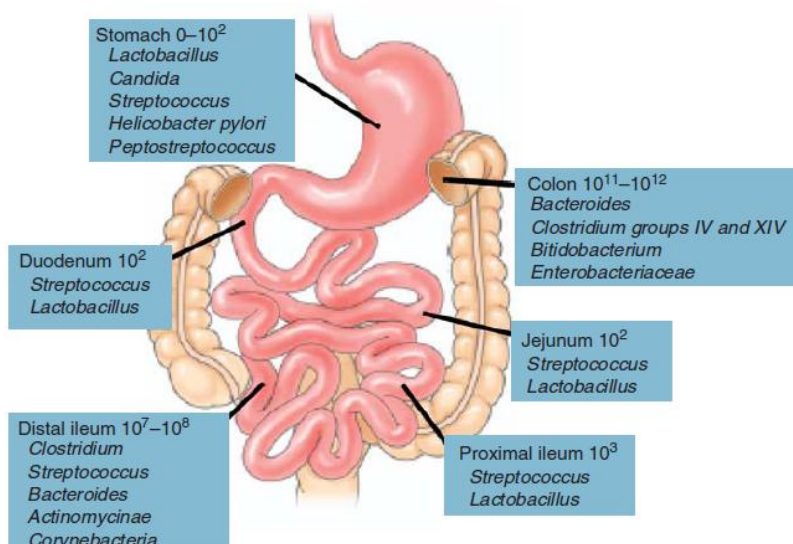


Figura 1. Composição e quantidade das espécies microbianas dominantes no trato gastrointestinal. (13)

4.3. Fatores moduladores da composição da microbiota

Para além das diferenças interpessoais da microbiota, reconhecem-se também flutuações da composição bacteriana nas amostras de um mesmo indivíduo ao longo de toda a vida. (3) Vários fatores podem contribuir para essa modulação da composição, como o tipo de parto, a exposição pós-natal, a idade, o tipo de dieta e o genótipo do indivíduo.

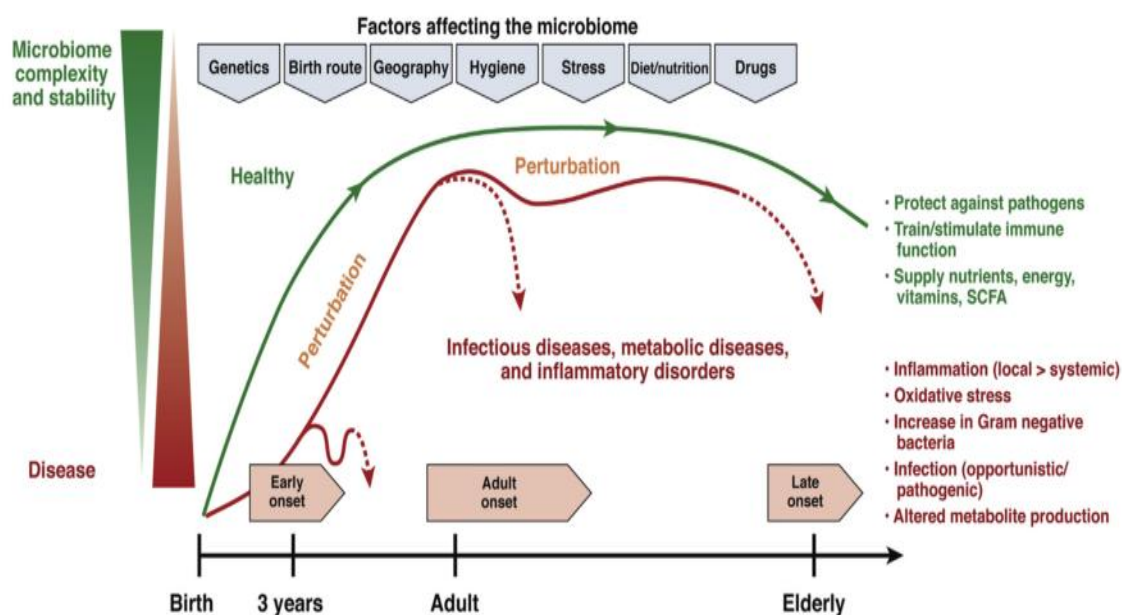


Figura 2. Fatores moduladores das características da microbiota. (14)

4.3.1. Parto e exposição pós-natal

Existem evidências de que a colonização do trato gastrointestinal começa na passagem pelo canal de parto com a exposição ao ambiente extra-uterino, como o contacto com os fluidos vaginais maternos. Os microrganismos iniciais fundadores da microbiota do recém-nascido são predominantemente bactérias produtoras de ácido láctico provenientes do leite e da vagina materna, exceto se o parto for por cesariana, no qual as bactérias iniciais se assemelharão às de origem cutânea (10). A idade pós-concepcional no parto é também um fator a ter em conta. A microbiota intestinal das crianças pré-termo é frequentemente colonizada mais lentamente, tem maior variabilidade interindividual e menor diversidade que a das crianças de termo. (15)

4.3.2. Idade

Enquanto as bactérias colonizadores precoces do intestino neonatal são principalmente aeróbios (como o *Staphylococcus*, *Streptococcus* e a família Enterobacteriaceae), à medida que a microbiota se torna mais complexa e estável vai convergindo para um padrão comum em que predominam anaeróbios, como os Firmicutes. (16)

A microbiota continua em constante evolução até à idade adulta, havendo um aumento gradual de *Bacteroides*, uma diminuição de *Lactobacillus* por volta dos 5 anos de idade e diminuição de *Bifidobacterium* no fim da adolescência. (9) Nos adultos saudáveis, a microbiota intestinal tende a permanecer estável por um período de 10 anos. (17) Já na terceira idade verifica-se uma diminuição de *Bacteroides* e aumento de *Enterococcus*. (9)

4.3.3. Dieta

O tipo de dieta encontra-se fortemente relacionado com a composição da microbiota intestinal a longo prazo: um consumo regular de carnes vermelhas favorece um ecossistema rico em *Bacteroides*, enquanto nos vegetarianos é evidente um predomínio de *Prevotella*. (18,19)

Um estudo comparativo de crianças urbanas europeias e de áreas rurais de África mostrou que crianças africanas que consomem dietas ricas em hidratos de carbono vegetais apresentam um ecossistema enriquecido em Bacteroidetes (com abundância dos géneros *Prevotella* e *Xylanibacter*) e com depleção em Firmicutes, em comparação com as europeias. (20) Nos vegetarianos há também uma microbiota intestinal alterada porque as elevadas quantidades de hidratos de carbono complexos ingeridos causam um aumento da produção de ácidos gordos de cadeia curta (AGCC) pelas bactérias, diminuindo o pH intestinal. Isto previne o crescimento de bactérias potencialmente patogénicas. (20)

4.3.4. Genética

O genótipo poderá ser importante na modulação da composição da microbiota. Um estudo mostrou que o nível de semelhança entre as comunidades microbianas dos gémeos monozigóticos é significativamente maior do que com os perfis fecais dos seus cônjuges (que vivem nas mesmas condições ambientais e que terão hábitos dietéticos comparáveis) e com indivíduos não relacionados. (21) Isto sugere que o genótipo poderá ter um papel mais importante na determinação da composição da microbiota que os fatores ambientais.

No entanto, outra investigação observou que tanto a microbiota de adultos gémeos monozigóticos como de dizigóticos era igualmente semelhante à dos seus irmãos, sugerindo que a colonização da microbiota a partir de uma mãe partilhada foi mais decisiva na determinação da sua microbiota em adulto do que o seu genótipo. (21)

Deste modo, permanece ainda por compreender em que extensão o genótipo de um indivíduo poderá condicionar a composição da sua microbiota entérica.

4.4. Funções da microbiota

As funções de nutrição e defesa do tubo digestivo não dependem apenas das suas estruturas próprias mas também da presença e atividade das comunidades microbianas que o colonizam. A microbiota é uma fonte constante de sinais reguladores positivos e negativos, com efeitos metabólicos e imunológicos essenciais à homeostasia do hospedeiro.

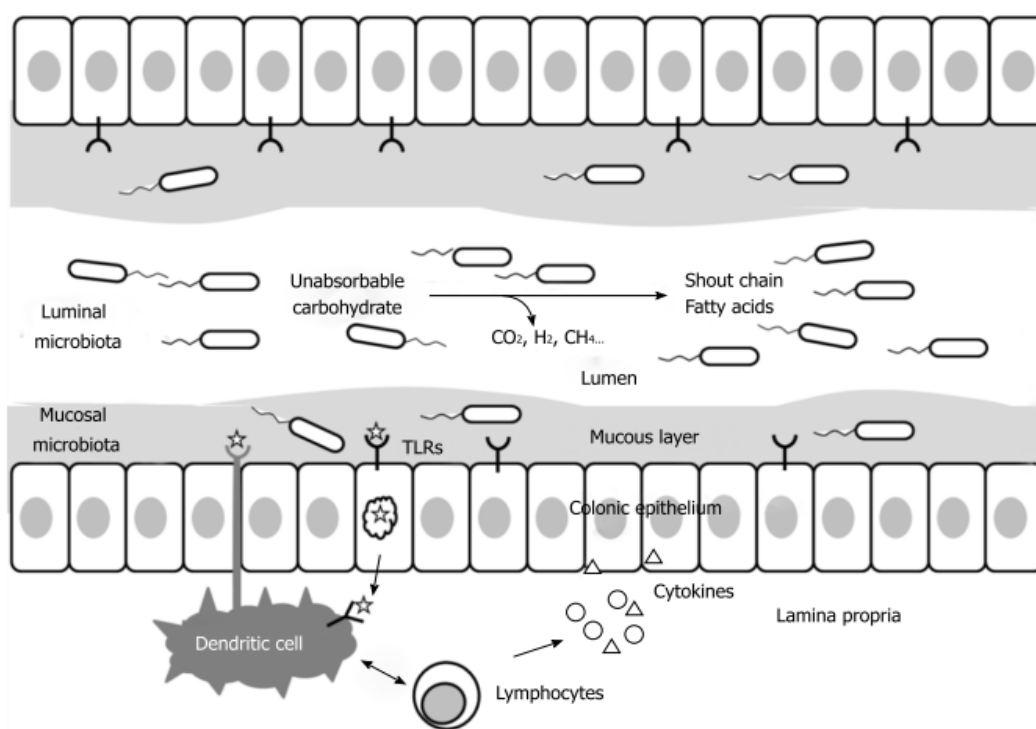


Figura 3. Funções da microbiota intestinal humana. (22)

4.4.1. Funções metabólicas

As funções metabólicas exercidas pela microbiota entérica consistem principalmente na recuperação de energia e nutrientes dos alimentos. A microbiota intestinal é composta maioritariamente por anaeróbios obrigatórios, que obtêm energia pela fermentação de hidratos de carbonos não absorvidos numa reação que leva à produção de AGCC e também de quantidades variáveis de hidrogénio e dióxido de carbono. (23)

Os AGCC consistem principalmente no acetato, propionato e butirato e são usados diretamente pelos colonócitos, que obtêm 60 a 70% das suas necessidades nutricionais. Os ACGG permitem também a acidificação do lúmen colónico, impedindo o crescimento de patógenos bacterianos. (3)

No cego e cólon direito ocorre uma intensa fermentação anaeróbia, com elevada produção de AGCC, um pH ácido de 5 a 6 e rápido crescimento bacteriano. O substrato do cólon distal encontra-se menos disponível, tornando o seu pH quase neutro e a evolução das populações bacterianas praticamente estática. (24)

O metabolismo anaeróbio das bactérias inclui também a fermentação proteolítica no cólon distal, originando derivados nitrogenados como aminas e amónia, alguns dos quais com efeitos carcinogénicos. (3)

4.4.2. Funções tróficas

Um dos principais papéis dos AGCC é o seu efeito trófico no epitélio intestinal. O acetato, propionato e butirato estimulam a proliferação celular epitelial e diferenciação no intestino delgado e cólon *in vivo*. (24)

A colonização bacteriana desempenha também um papel fundamental como indutor da maturação do sistema imunitário adquirido e dos seus mecanismos reguladores. Roedores criados em condições de assepsia apresentam atrofia das estruturas imunitárias da mucosa, como folículos linfóides de pequeno tamanho e escassez de linfócitos intra-epiteliais e da lâmina própria, bem como do sistema imunitário sistémico. (25)

A microbiota pode levar à expansão de células B e T nas placas de Peyer e gânglios linfáticos mesentéricos, especialmente das células T CD4+. (26) As estirpes bacterianas *Clostridia IV, XIVa e XVII* mostraram ser capazes de induzir a diferenciação, função e acumulação de células T reguladoras (Treg). (27) Estas células modulam a resposta imunitária adaptativa, mantendo a tolerância aos autoantígenos e suprimindo a ativação excessiva do sistema imunitário. Uma insuficiente expressão das Treg pode levar a níveis aumentados de Th1 e Th2, facilitando

respostas inflamatórias crónicas. (28) A ativação das Treg pela microbiota pode conduzir assim a uma diminuição da inflamação intestinal.

4.4.3. Funções defensivas

O intestino humano constitui a principal barreira de contacto com o meio externo. As células epiteliais intestinais oferecem uma barreira física e química que impede as bactérias entéricas de interagirem com a lâmina própria e de participarem ativamente nas respostas imunitárias inatas. (29) A microbiota contribui para este efeito: a presença de bactérias nativas que ocupam os nichos ecológicos acessíveis impede a invasão de elementos microbianos exógenos ao ecossistema, evitando assim a sua possível infetividade.

Outra função do seu efeito barreira é a prevenção do sobrecrescimento de espécies com potencial patogénico, de que é exemplo o *Clostridium difficile*. Esta bactéria faz parte da microbiota nativa em condições fisiológicas, mas poderá adquirir uma posição dominante com a administração de alguns antibióticos, levando à produção de toxinas e lesão da mucosa. (3)

Caso os microrganismos ultrapassem esta defesa inicial, irão ser produzidos fenómenos de reconhecimento imunológico que levarão à ativação do sistema imunológico inato.

4.5. Interação da microbiota com o sistema imunitário

O trato gastrointestinal funciona como um importante órgão imunológico. Aproximadamente 70% das células do sistema imunitário estão presentes no intestino e encontram-se numa contínua discriminação entre antígenos potencialmente patogênicos e inofensivos. No entanto, a maioria dos antígenos orais não resulta em respostas inflamatórias em indivíduos saudáveis, fenômeno conhecido como tolerância oral. (30) Isto resulta de mecanismos homeostáticos que inibem receptores bacterianos, levando à ausência de respostas imunitárias inatas e adaptativas. (29)

Os antígenos presentes no lúmen intestinal são geralmente reconhecidos pelas células dendríticas presentes nas placas de Peyer, as quais possuem processos dendríticos capazes de promover a sua translocação da lâmina própria para o lúmen através de junções de oclusão. (30) A patogenicidade das bactérias determinará se as células dendríticas induzirão autotolerância via secreção de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 ou TGF- β ou responderão de forma agressiva com produção de citocinas pró-inflamatórias. (22)

O reconhecimento bacteriano é feito através de receptores de reconhecimento padrão (RRP), dentro dos quais os receptores toll-like (TLR) desempenham um papel crítico. (31) Os TLR consistem numa família de receptores expressos na superfície celular das células imunitárias, tal como nas células dendríticas e nas membranas apicais e basolaterais dos enterócitos. (22)

Sob condições basais, as células epiteliais intestinais apresentam uma expressão constitutiva de TLR-3 e TLR-5 e baixa expressão de TLR-2 e TLR-4, sendo aumentada quando em condições pró-inflamatórias. (32,33) O TLR-2, 4 e 5 são expressos na superfície celular e reconhecem microrganismos extracelulares, enquanto o TLR-3 encontra-se no meio intracelular nas vesículas endossomáticas, onde deteta partículas virais. (33)

O epitélio intestinal possui ainda outros mecanismos que previnem a translocação de antígenos e microrganismos para a lâmina própria, como a expressão de junções de oclusão, produção de muco pelas células de Goblet e de péptidos antimicrobianos pelas células de Paneth. (30)

A microbiota entérica e o sistema imunitário estabelecem assim uma constante interação, com influência mútua. Desta relação resultam várias respostas imunológicas, como a secreção de imunoglobulina A e libertação de péptidos antimicrobianos, que permitem a manutenção de um equilíbrio dinâmico da microbiota nativa. (34)

5. A Microbiota na Doença

O desenvolvimento de novas formas de estudo da microbiota intestinal humana tem conduzido a uma progressiva mudança de paradigma, com a implicação da microbiota na etiologia e patogenia de várias doenças gastrointestinais.

A descoberta do *Helicobacter pylori* e da sua associação com a gastrite crônica, úlcera péptica, cancro gástrico e o linfoma de tecido linfóide associado à mucosa gástrica (MALT) representam a descoberta de maior sucesso neste campo até à data.

Há uma crescente tendência para que o conceito de que cada doença infecciosa possui uma única causa bacteriana evolua para um modelo de interações entre microrganismos e hospedeiro mais complexas, com um grupo de microrganismos comensais a tornarem-se patogénicos de acordo com a suscetibilidade do hospedeiro. (10)

Um estado de disbiose, isto é, um desequilíbrio estrutural ou funcional das propriedades da microbiota intestinal, tem vindo a ser implicado não só em várias doenças digestivas, como a síndrome do intestino irritável (SII), doença inflamatória intestinal (DII) e esteatohepatite não alcoólica, como também em doenças sistémicas, de que são exemplo a obesidade e diabetes. (2,28) As doenças digestivas que atualmente apresentam um maior grau de evidência a corroborar o papel da microbiota na sua etiologia são a síndrome do intestino irritável e a doença inflamatória intestinal.

5.1. Síndrome do intestino irritável

A síndrome do intestino irritável é uma das doenças gastrointestinais mais comuns em todo o mundo, afetando de 5 a 15% dos adultos da população geral. (35)

A SII é considerada um distúrbio funcional, sem quaisquer anomalias físicas, radiológicas, endoscópicas ou bioquímicas que indiquem doença orgânica. (36) O seu diagnóstico é assim fundamentalmente clínico e baseia-se nos critérios diagnósticos de Roma, que consistem em dor ou desconforto abdominal recorrente durante pelo menos três dias por mês, nos últimos três meses, associado a pelo menos dois dos seguintes:

1. Melhoria com a defecação;
2. Início associado a uma alteração da frequência das dejeções;
3. Início associado a uma alteração da consistência das dejeções. (37)

Estes critérios dividem também a doença em quatro grandes grupos: SII com predominância de diarreia (SII-D), SII com predominância de obstipação (SII-C), SII com características mistas

(SII-M) se houver um padrão alternante entre diarreia e obstipação e SII não definida quando os sintomas não preenchem os critérios de um dos tipos anteriores. (38)

A etiopatogenia da SII não está ainda totalmente compreendida, mas têm sido sugeridas alterações da motilidade gastrointestinal, da microbiota intestinal, do eixo cérebro-intestino e a existência de hipersensibilidade visceral. (36) As principais linhas de evidência que implicam a microbiota entérica no surgimento da SII encontram-se resumidas na tabela apresentada a seguir.

Tabela 1. Principais evidências que suportam o papel da microbiota entérica na etiopatogenia da síndrome do intestino irritável

-
1. Alterações qualitativas e quantitativas da microbiota intestinal;
 2. SII pós-infeciosa;
 3. Prevalência aumentada de sobrecrecimento bacteriano do intestino delgado na SII;
 4. Eficácia da restrição dietética de FODMAP na melhora sintomática;
 5. Eficácia de algumas terapêuticas moduladoras da microbiota intestinal.
-

5.1.2. Disbiose da microbiota intestinal

Numerosas investigações científicas, tanto baseadas em métodos de cultura como as mais recentes avaliações moleculares, têm vindo a reportar que a proporção de vários grupos bacterianos está alterada e a diversidade das populações microbianas reduzida na SII, em comparação com controlos saudáveis.

As investigações iniciais da microbiota fecal baseadas em culturas de material fecal de doentes com SII tiveram como achados mais consistentes uma diminuição da proporção de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e aumento do género *Enterobacter*. (39,40)

Em 2005, *Kassinen et al* realizaram o primeiro estudo da microbiota usando a reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real e detetaram uma maior diminuição da quantidade de *Lactobacillus* na SII-D que na SII-C, quantidades mais baixas de *Bifidobacterium* na SII-D e quantidades maiores de *Veillonella* na SII-C que nos grupos controlo. (41) Há também evidência na SII-D de níveis mais elevados de Enterobacteriaceae e mais baixos de *Faecalibacterium prausnitzii* do que em controlos saudáveis. (42)

Outra investigação de 24 amostras fecais de doentes com SII e 23 controlos, também usando as técnicas de sequenciamento do DNA de nova geração, revelou que a microbiota fecal está consideravelmente alterada na SII, com uma diminuição da proporção de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. (43)

Mais recentemente, alguns estudos demonstraram uma abundância relativa de Firmicutes, primariamente Ruminococcaceae e *Clostridium grupo XIVa*, bem como uma diminuição da abundância relativa de *Bacteroides*. (4,44,45)

Poderá também existir uma relação causal entre o aparecimento de sintomas com mudanças na ecologia intestinal. Um estudo de adultos saudáveis descreveu uma associação entre o aparecimento de dor e baixas quantidade de *Bifidobacterium*, durante um seguimento de 7 semanas. (46)

Os vários resultados obtidos pela investigação relativos à composição da microbiota na SII são difíceis de comparar, não só pela heterogeneidade dos métodos usados como também por as alterações da microbiota intestinal poderem não ser consistentes em cada subtipo de SII.

O método de colheita de amostras pode igualmente influenciar a composição da microbiota intestinal. Mais comumente, amostras de material fecal são usadas para determinar a composição da microbiota intestinal, pois podem ser facilmente colhidas de forma não invasiva. No entanto, estas amostras representam apenas as bactérias do lúmen do cólon distal, não refletindo de forma fiável a composição microbiana do cólon proximal. Já as amostras por biópsia representam apenas a microbiota associada à mucosa. (22,47)

5.1.3. Sobrecrecimento bacteriano do intestino delgado

Para além das possíveis alterações qualitativas e quantitativas da composição da microbiota colónica, foi também sugerida a coexistência de sobrecrecimento bacteriano do intestino delgado (SBID). Desde que *Pimentel et al* reportaram que 84% dos doentes com SII tinham SBID e que doentes com SII eram 26 vezes mais propensos a ter SBID que o grupo controlo, este assunto tem sido objeto de crescente investigação. (48)

Um dos problemas centrais na demonstração desta hipótese é a falta de precisão dos meios diagnósticos. O *gold-standard* para o diagnóstico de SBID é o aspirado jejunal seguido de cultura de 48 horas. O achado de pelo menos 10^5 unidades formadoras de colónias (UFC)/ml indica a presença de SBID. (22) No entanto, este é um teste invasivo e difícil de realizar, pelo que a SBID é habitualmente diagnosticada via métodos indiretos, como os testes respiratórios de hidrogénio, os quais apresentam uma baixa sensibilidade e especificidade. (37,49)

Isto tem levado a várias conjeturas, nomeadamente sobre a verdadeira taxa de prevalência de SBID em doentes com SII. Vários estudos e uma meta-análise demonstraram uma maior prevalência de SBID em doentes com SII em relação a controlos saudáveis. (50,51) Contudo, as taxas de prevalência reportadas de SBID em doentes com SII são mais baixas quando o diagnóstico de SBID é baseado em culturas do lúmen do intestino delgado relativamente às baseadas em testes respiratórios de hidrogénio. (52)

Esta discrepância de resultados poderá eventualmente dever-se a falsos negativos no método de cultura, por o SBID possivelmente ocorrer distal à zona de amostragem. Uma taxa elevada de falsos positivos no teste respiratório foi já demonstrada, podendo resultar da metabolização do substrato pela microbiota do cólon em vez da do intestino delgado. (53)

Consequentemente, ainda permanece por comprovar a relevância da microbiota do intestino delgado na etiologia da SII.

5.1.4. Inflamação e imunidade

Uma das mais fortes indicações da importância da microbiota e da inflamação de baixo grau na etiologia da SII é o aparecimento de sintomas característicos de SII após uma gastroenterite, sendo neste caso denominada SII pós infecciosa. A SII pós-infecciosa está descrita após infeções pelos organismos *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella* e *Salmonella*. (6,54)

Uma metanálise estabeleceu haver um odds ratio (OR) de 7,3 de desenvolver SII após uma gastroenterite infecciosa, mostrando assim uma forte associação entre estas duas patologias. (55) Uma outra metanálise que analisou 9 estudos prospetivos determinou um OR de desenvolver SII pós-infecciosa de 5,9 e concluiu também que o risco permanecia elevado até 3 anos após a infeção. (56) Neste último estudo foram ainda identificados como fatores de maior risco de desenvolvimento de SII pós infecciosa um grupo etário mais baixo, distúrbios psicológicos e a natureza da doença gastrointestinal. (56)

Uma observação clínica que apoia indiretamente o papel da inflamação de baixo grau na origem de sintomas compatíveis com SII vem de doentes com doença inflamatória intestinal (DII). Uma proporção substancial de doentes com DII tem sintomas característicos de SII quando se encontram em fase de remissão, isto é, quando não há sinais óbvios de inflamação ativa. (57)

Uma revisão sistemática de 16 estudos enfatizou o potencial papel dos mastócitos e linfócitos como os componentes celulares dominantes da resposta inflamatória de baixo grau vista em doentes com SII, mas nenhum estudo mostrou uma diferença significativa no número de células plasmáticas, neutrófilos ou eosinófilos. (58)

Foram identificados também em doentes com SII um aumento da expressão de TLR-4 e TLR-5 e diminuição da expressão de TLR-7 e TLR-8. (59) Adicionalmente à alteração da expressão de TLR, há também alteração da sinalização mediada pelos TLR. Usando monócitos do sangue periférico retirados de doentes com SII que foram estimulados com agonistas dos TLR específicos, *McKernan et al* mostraram uma libertação aumentada de fator de necrose tumoral (FNT) pela estimulação de TLR-2, de interleucina (IL) 8 pela estimulação de TLR-3 e 7 e de IL-1 β e FNT pela estimulação de TLR-4 e 5. (60)

Para além dos recetores TLR, outro importante componente da imunidade inata possivelmente alterado é a secreção de péptidos antimicrobianos pelo epitélio colónico. A proporção da defensina humana $\beta 2$ está aumentada no epitélio e fezes de doentes com SII. (61)

Anticorpos específicos para a flagelina, o componente primário dos flagelos, são também mais frequentemente encontrados em doentes com SII do que na população geral. (62)

5.1.5. Alteração da atividade metabólica bacteriana

Uma conhecida hipótese da patogénese da SII propõe que os produtos da fermentação bacteriana poderão estar na origem dos sintomas da SII. O aumento da fermentação pode causar um aumento da produção de gases, que poderão desencadear o desenvolvimento de sintomas típicos da SII como flatulência, distensão e dor abdominal.

Os oligossacarídeos, dissacarídeos, monossacarídeos e polióis fermentáveis (FODMAP) são hidratos de carbono de cadeia curta de difícil absorção no intestino delgado usados no cólon como substrato da fermentação bacteriana. Podem também provocar um deslocamento de água para o lúmen pelo seu elevado poder osmótico. (63) A favor do envolvimento dos produtos da fermentação bacteriana na etiologia da SII estão a presença de concentrações de AGCC aumentadas na SII-D, (64) bem como a melhoria sintomática da SII observada após restrição dietética de FODMAP. (65)

Adicionalmente, os AGCC podem estimular a libertação de serotonina pela mucosa intestinal. (66) Foi demonstrado que a serotonina inicia contrações colónicas propagadas de alta amplitude, aceleração do trânsito e aumento da motilidade intestinal, podendo deste modo contribuir para os sintomas da SII. (66,67)

Estas relações interdependentes entre os microrganismos bacterianos e os componentes dietéticos indicam que o efeito dos FODMAP nos sintomas da SII estará diretamente relacionado com a microbiota intestinal, sugerindo que a manipulação da microbiota, tanto pela alteração da sua composição para espécies não produtoras de gases na fermentação, como também da sua atividade metabólica, poderá constituir um caminho terapêutico eficaz na melhoria sintomática da SII.

5.1.6. Efeito dos probióticos, prebióticos e antibióticos na SII

Outra forte evidência que suporta o papel da microbiota na patogenia da SII é a observação clínica de que terapêuticas que modulam diretamente a microbiota intestinal, como os probióticos, prebióticos e antibióticos, podem melhorar os sintomas da SII.

Probióticos

Os probióticos consistem em microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios na saúde do hospedeiro. (23) As várias metanálises existentes variam na sua conclusão sobre a efetividade dos probióticos na SII, sendo um dos principais motivos a heterogeneidade das espécies e estirpes bacterianas usadas. Diferentes estirpes têm diferentes características microbiológicas, que influenciam a sua eficácia. (22)

Uma revisão sistemática por *Moayyedi et al* analisou 19 ensaios controlados randomizados feitos em 1650 doentes com SII e concluiu que os probióticos são melhores que o placebo. (68)

Brenner et al avaliaram 16 ensaios controlados randomizados e concluíram que onze deles apresentavam problemas no desenho de estudo, tal como tamanho de amostras inadequado. (69) Concluíram também que apenas dois desses estudos - os quais usaram *Bifidobacterium infantis* 35624 - apresentaram melhoras significativas na dor/desconforto abdominal, distensão abdominal e motilidade intestinal.

O mecanismo de ação dos probióticos poderá estender-se para além da modulação da composição da microbiota. Um estudo mostrou que, após a administração de *Bifidobacterium infantis* 35624 em doentes com SII, para além de uma melhoria sintomática houve também uma estimulação da produção de citocinas anti-inflamatórias como IL-10 e IL-12. (70)

Prebióticos

Os prebióticos consistem em hidratos de carbono que beneficiam o hospedeiro pela estimulação seletiva do crescimento e/ou a atividade de bactérias colónicas benéficas. (23) Apesar do número reduzido de estudos sobre a sua ação na SII, os mais comumente estudados nesta patologia têm sido os frutanos do tipo inulina e os galacto-oligosacarídeos.

A ausência de enzimas que os metabolizem no trato gastrointestinal favorece o seu uso como substrato na fermentação anaeróbia da microbiota no cólon. Como apenas um número limitado de espécies bacterianas é capaz de os degradar, essas mesmas espécies poderão aumentar de número pela obtenção de energia através da fermentação. (71) A inulina é capaz de estimular o crescimento seletivo de *Bifidobacterium adolescentis* e *Faecalibacterium prausnitzii*. (72)

Uma revisão de 4 estudos controlados randomizados concluiu que a resposta aos prebióticos é dose dependente, em que altas doses (> 7 gramas por dia) levava invariavelmente a um agravamento sintomático, enquanto doses de 5 gramas por dia de oligofrutose melhoravam globalmente os sintomas. (73)

O mecanismo destes efeitos adversos na toma de altas doses de prebióticos terá provavelmente uma etiologia semelhante aos efeitos adversos que advêm de dietas ricas em hidratos de carbono. Deste modo, pequenas quantidades de prebióticos poderão trazer benefício mas a sua administração de doses elevadas, tal como dietas ricas em FODMAP, levarão a um aumento da produção luminal de gases e desencadeamento de sintomas.

Antibióticos

Já é bem conhecido o facto de que a composição da microbiota intestinal é alterada pela administração de antibióticos. Os antibióticos têm a grande vantagem de ser efetivos na erradicação de bactérias patogénicas mas são também responsáveis pela redução da diversidade microbiana, permitindo desta forma a colonização de novos nichos do ecossistema por bactérias oportunistas. (28)

Apesar de ser crença geral que estas mudanças induzidas pelos antibióticos são normalizadas dentro de semanas após a sua cessação, vários estudos têm vindo a questioná-la. Foi demonstrada uma redução significativa na diversidade de *Bacteroides* que persistiu por 2 anos após a administração de clindamicina durante 7 dias. (74)

Estudos baseados no antibiótico não absorvível rifaximina têm fornecido a melhor evidência sobre os efeitos dos antibióticos nos sintomas da SII. Um ensaio controlado randomizado recente mostrou que a toma diária de rifaximina 550 miligramas 3 vezes por dia durante 2 semanas levava a uma melhoria sintomática da flatulência, dor abdominal e consistência das fezes, mantendo-se este efeito dez semanas após o fim do tratamento (75). Outro ensaio controlado randomizado, para além de ter demonstrado uma melhoria geral dos sintomas sem observar efeitos adversos, encontrou uma correlação entre a melhoria dos sintomas e uma diminuição de excreção de hidrogénio medida pelos testes respiratórios. (76) Em adição aos seus efeitos bactericidas, a rifaximina tem também efeitos anti-inflamatórios. (77)

5.2. Doença inflamatória intestinal

A doença inflamatória intestinal consiste num estado inflamatório crónico intestinal que inclui duas doenças, a doença de Crohn (DC) e colite ulcerosa (CU). Estas são patologias heterogéneas, nas quais os doentes podem apresentar diferentes fenótipos clínicos. A DC pode afetar qualquer parte do trato gastrointestinal, apesar de mais comumente envolver o íleo terminal, e é caracterizada por lesões transmurais descontínuas. A CU geralmente envolve o reto e estende-se proximalmente para envolver o cólon, restringe-se à mucosa e submucosa superficial do cólon e apresenta lesões contínuas. (78)

Tal como na SII, várias investigações científicas têm sugerido a implicação da microbiota na etiopatogenia da DII.

Tabela 2. Principais evidências que suportam o papel da microbiota entérica na etiopatogenia da doença inflamatória intestinal

1. Alterações qualitativas e quantitativas da microbiota intestinal;
2. Ocorrência preferencial da DC e CU nos segmentos intestinais com maiores concentrações de bactérias; (79)
3. Polimorfismos de genes que codificam recetores bacterianos;
4. Roedores criados em ambientes de assepsia não desenvolvem CU; (80)
5. Aumento da permeabilidade intestinal na DC. (81)

5.2.1. Disbiose da microbiota intestinal

Uma diminuição da biodiversidade tem sido um dado particularmente consistente em vários estudos da microbiota intestinal de doentes com DII, embora não seja específico. Num dos estudos iniciais em 2008 foi demonstrado por *Sokol et al* uma diminuição dos níveis de *Faecalibacterium prausnitzii* em adultos com DC. A depleção de *F. prausnitzii* foi também preditiva da recorrência de doença pós-operatória em doentes submetidos a ressecção ileal. (82)

Quase todos os estudos que caracterizaram a microbiota na DII mostraram um aumento significativo das Enterobacteriaceae, mais especificamente de *Escherichia* e *Shigella*. (8) Uma investigação mostrou que a *E. coli* com propriedades invasivas e aderentes colonizava a mucosa ileal em doentes com DC mais frequentemente do que nos grupos de controlo. (83) Este achado tem sido crescentemente encontrado nos últimos anos. (8)

O género *Fusobacterium* é um grupo de bactérias gram-negativas com propriedades invasivas e aderentes. Este coloniza principalmente a mucosa oral mas pode igualmente colonizar o intestino e foi encontrado em maior abundância na mucosa colónica de doentes com CU. (84) A espécie *Fusobacterium varium* induziu erosão da mucosa colónica em roedores, sugerindo assim um papel patogénico direto na formação de lesões típicas da CU. (85)

Frank et al demonstraram que um subconjunto de doentes com DII apresenta uma redução dos níveis de Firmicutes e Bacteroidetes e aumento concomitante de Proteobacteria e Actinobacteria. (86) Entre os Firmicutes, há uma particular diminuição da proporção de *Faecalibacterium prausnitzii*, a qual foi associada a uma redução da proteção da mucosa. (87) Recentemente, foi também reportado por *Dubot et al* uma diminuição do rácio entre *F. prausnitzii* e *E. coli*. (88)

Estudos em roedores têm vindo a demonstrar que determinadas espécies bacterianas podem ter efeitos opostos, com indução de doença em um hospedeiro suscetível mas proteção em outra estirpe roedora e que diferentes espécies bacterianas podem induzir fenótipos clínicos variáveis em um único hospedeiro geneticamente suscetível. (89)

Da análise dos vários investigações destaca-se uma tendência para um excesso de organismos pró-inflamatórios como a *E. Coli enteroaderente* e depleção de organismos com propriedades anti-inflamatórias, como o *F prausnitzii*. (10) O *F. prausnitzii* mostrou ter atividade anti-inflamatória por estimulação da citocina anti-inflamatória IL-10 *in vitro* e em modelos animais com colite. (82)

5.2.2. Genética e imunidade

O epitélio do cólon encontra-se em proximidade com uma grande diversidade de microrganismos. Isto resulta numa constante rede de comunicação entre o hospedeiro e os microrganismos, fundamental para a manutenção de homeostasia de ambos. Em doentes com DII, este delicado equilíbrio pode ser danificado como resultado de defeitos da imunidade no reconhecimento e remoção de microrganismos.

A DII é uma das doenças gastrointestinais em que a genética tem um papel mais fortemente apoiado, tendo já sido identificados 160 polimorfismos de nucleótido único (PNU) associados a um aumento de risco de desenvolvimento de DII. (90)

A proteína 2 de domínio de oligomerização de nucleótidos (NOD2) foi o primeiro desses produtos génicos a ser identificado e poderá ser crucial na distinção entre organismos patogénicos e não patogénicos. O NOD2 é um RRP intracelular, que, ao ligar-se aos dipéptidos muramil bacterianos (DMB) inicia a transdução de sinal pela entrada do fator de transcrição NFkB dentro do núcleo (5). A sua disfunção causa uma incapacidade de responder aos DMB, levando assim a uma sinalização ineficaz do NFkB. (91)

Verificou-se que a disfunção do NOD2 causa a translocação de bactérias entéricas para a lâmina própria, com alteração da expressão de citocinas após exposição das células sanguíneas mononucleares aos MDB, potencialmente explicando as alterações nos perfis de citocinas tipicamente observados na DC. (92) Roedores com depleção de NOD-2 têm um aumento significativo de Bacteroides, Firmicutes e *Bacillus* no íleo terminal e diminuição da habilidade de eliminação de uma espécie bacteriana patogénica - *Helicobacter hepaticus*. (93)

Defeitos na autofagia poderão igualmente acarretar uma incapacidade de controlo da estabilidade da microbiota intestinal. Vários estudos têm vindo a implicar o gene ATG166L1, que codifica uma proteína envolvida na formação de autofagossomas, na etiologia da DC. Um estudo de associação ampla de genoma de 19779 PNU não sinónimos mostrou uma forte associação entre a DC e a variante T300A do gene ATG16L1. Não foi encontrada associação entre esta variante e a CU. Foi Demonstrado também que esta variante é responsável por virtualmente todo o risco de desenvolvimento de DC exercido por este gene. (94)

Estes resultados foram corroborados por uma meta-análise, que relatou uma associação entre a variante T300A e um aumento do risco de desenvolvimento tanto de DC como de CU, apesar de a associação ser mais clara com a primeira. (78)

Tal como o NOD2, os TLR são também participantes ativos nas interações luminais. O TLR-4, que normalmente se encontra expresso em baixos níveis, encontra-se em níveis aumentados na DC e CU ativas. O TLR-3, expresso constitutivamente em condições fisiológicas, encontrou-se significativamente reduzido nas células intestinais epiteliais na DC mas não na CU. A expressão de TLR-2 e TLR-5 permaneceu inalterada em ambas as doenças. (95) Estes dados sugerem que a DII poderá estar associada a mudanças na expressão seletiva de TLR.

5.2.3. Outras evidências sugestivas do papel da microbiota na DII

A DC e CU preferencialmente ocorrem no cólon e/ou íleo distal, locais que apresentam as mais altas concentrações bacterianas intestinais, sugerindo assim uma possível relação direta entre as elevadas concentrações bacterianas e o aparecimento de doença. (79) Esta relação foi estudada por *Swidsinski et al*, que realizou culturas da mucosa colónica de 305 doentes com DII e 40 controlos. Este grupo concluiu que a concentração de bactérias associadas à mucosa era reduzida no grupo controlo assintomático e substancialmente maior em doentes com DII, particularmente com a DC. A concentração média de bactérias associadas à mucosa aumentava também com a severidade da doença. (96)

Um estudo em roedores com deleção do gene para a IL-10 mostrou que estes desenvolviam CU quando em condições convencionais mas não quando criados num ambiente asséptico,

indicando que as bactérias entéricas são necessárias para o desenvolvimento desta doença. (80)

Outro achado pertinente foi a demonstração de uma camada mucosa mais fina e menos sulfatada em doentes com CU, que poderá ter como consequência um maior número de microrganismos colonizando a mucosa. (5) Foi detetado igualmente, em 36% de doentes com DC, um aumento significativo da permeabilidade intestinal aumentada, resultando numa disfunção da função de barreira epitelial. (81)

6. Conclusão

A microbiota intestinal humana consiste num ecossistema metabolicamente ativo e essencialmente bacteriano, que habita predominantemente no trato gastrointestinal, estabelecendo com o ser humano uma relação de simbiose essencial à manutenção da sua homeostasia. Esta é uma relação bidirecional e interdependente, aspeto particularmente aparente na sua função metabólica: as bactérias adquirem no trato gastrointestinal substrato para a fermentação anaeróbia, produzindo neste mesmo processo AGCC que permitem a recuperação de energia e nutrientes ao organismo humano.

A microbiota entérica estabelece também uma estreita e mútua relação com o sistema imunitário do hospedeiro. A presença de microrganismos tem um papel crucial como indutor da maturação do sistema imunitário adquirido, enquanto a presença de antigénios bacterianos no lúmen intestinal induz uma resposta pró-inflamatória e ativação do sistema imunitário inato. (22,25,30)

Deste modo, a microbiota desempenha funções essenciais à digestão, nutrição e defesa do hospedeiro, devendo por isso ser considerada um importante órgão endócrino e imunológico.

Esta é uma nova era para a investigação da microbiota, em que a introdução de técnicas de sequenciamento do DNA tem permitido um grande avanço no entendimento da comunidade bacteriana intestinal humana. Atualmente conhecem-se as espécies bacterianas que a compõem, a sua abundância relativa ao longo do trato gastrointestinal, o seu grau de variabilidade e alguns dos fatores moduladores da sua composição. (10) Estas recentes técnicas possibilitaram de igual forma a descoberta da presença de um estado de disbiose em várias doenças digestivas.

A evidência mais convincente, até à data, que corrobora a importância da microbiota na SII, é a observação clínica do seu aparecimento após uma gastroenterite infecciosa. Além disso, outras alterações da microbiota foram também detetadas na SII, nomeadamente uma diminuição da diversidade de algumas populações bacterianas, como *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Faecalibacterium prausnitzii*. (39,40,42)

Tem havido um grande interesse no potencial clínico e implicações terapêuticas do sobrecrescimento bacteriano do intestino delgado na SII. No entanto, a evidência existente é largamente baseada em testes respiratórios que não se encontram validados, permanecendo ainda controverso o seu papel.

Na DII, uma diminuição da biodiversidade tem sido um achado particularmente consistente. Destaca-se ainda uma tendência para um excesso de organismos pró-inflamatórios com uma concomitante depleção de organismos com propriedades anti-inflamatórias, como o *Faecalibacterium prausnitzii*. (10)

Tal como já referido, há uma estreita relação entre a microbiota e o sistema imunitário do hospedeiro, não sendo assim de surpreender que tanto na SII como na DII exista uma desregulação do processo imunitário a vários níveis. Curiosamente, estão descritas nestas patologias alterações no mesmo nível de regulação, como uma alteração da expressão dos recetores TLR que participam no reconhecimento bacteriano.

Por conseguinte, sabe-se nos dias de hoje que alterações na composição e função da microbiota entérica têm impacto na saúde humana e que, na presença de disrupção da relação de simbiose da microbiota com o hospedeiro, uma grande variedade de doenças pode surgir.

No entanto, muitas das questões básicas acerca do seu papel na etiopatogenia das doenças gastrointestinais permanecem ainda por responder. Tanto na SII como na DII, está ainda por determinar se as alterações da microbiota são os eventos primários que levam ao desenvolvimento de doença ou apenas a sua consequência. A maioria dos estudos revela alterações de comunidades bacterianas em indivíduos com SII e DII, mas isto por si só implica apenas associação e não necessariamente causalidade. Importa também perceber se a disbiose poderá ter como evento primário o surgimento de patógenos exógenos, o desaparecimento de microrganismos nativos ou simplesmente uma resposta imunitária aberrante aos microrganismos pré-existentes.

Concluindo, são necessárias mais investigações científicas bem como a continuação do desenvolvimento de ferramentas de investigação que permitam uma melhor determinação do papel da microbiota nos estados de saúde e doença.

Uma melhor compreensão poderá melhorar muitos aspetos da vida diária de doentes através da otimização terapêutica. A implicação da microbiota na SII e DII torna-a um alvo terapêutico plausível e há já numerosas evidências clínicas de que tratamentos moduladores da microbiota intestinal, como os probióticos, prebióticos e antibióticos, podem levar a uma melhoria sintomática da SII, tal como na DII em menor grau de evidência. A descoberta de alvos específicos da microbiota poderá permitir a remoção de organismos patogénicos e o enriquecimento com microrganismos com propriedades benéficas que contribuam para um estado de saúde.

7. Bibliografia

1. Khanna S, Tosh PK. A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clin Proc* [Internet]. 2014 Jan [cited 2014 Aug 9];89(1):107-14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24388028>
2. Bustos Fernandez LM, Lasa JS, Man F. Intestinal Microbiota: Its Role in Digestive Diseases. *J Clin Gastroenterol* [Internet]. 2014 Jun 11 [cited 2014 Aug 7]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24921207>
3. V. G. Lacima. *Tratado de neurogastroenterología y motilidad digestiva*. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2014.
4. Salonen A, de Vos WM, Palva A. Gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome: present state and perspectives. *Microbiology* [Internet]. 2010;156:3205-15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20705664>
5. Bringiotti R, Ierardi E, Lovero R, Losurdo G, Leo A Di, Principi M. Intestinal microbiota: The explosive mixture at the origin of inflammatory bowel disease? *World J Gastrointest Pathophysiol* [Internet]. 2014 Nov 15 [cited 2014 Nov 18];5(4):550-9. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4231519&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
6. Lyra A, Lahtinen S. *Dysbiosis of the Intestinal Microbiota in IBS*. 2010;
7. Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev* [Internet]. 2010 Jul 1 [cited 2014 Jul 12];90(3):859-904. Available from: <http://physrev.physiology.org/content/90/3/859>
8. Schippa S, Conte MP. Dysbiotic Events in Gut Microbiota: Impact on Human Health. *Nutrients* [Internet]. 2014 Jan [cited 2014 Dec 17];6(12):5786-805. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25514560>
9. Simrén M, Barbara G, Flint HJ, Spiegel BMR, Spiller RC, Vanner S, et al. Intestinal microbiota in functional bowel disorders: a Rome foundation report. *Gut* [Internet]. 2013 Jan [cited 2014 Jul 13];62(1):159-76. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3551212&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
10. Hill C, Shanahan F. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease* [Internet]. Tenth Edit. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2010. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4557-4692-7.00003-X>
11. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* [Internet]. 2011 May 12 [cited 2014 Jul 9];473(7346):174-80. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3728647&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
12. Swidsinski A, Loening-Baucke V, et al. Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine: a fluorescence in situ hybridization study in mice. *World J ...* [Internet]. 2004; Available from: <http://www.wjgnet.com/downpdf.asp?url=/1007-9327/11/1131\file:///Users/corneliusima/Library/Application>

- Support/Papers2/Articles/2004/Swidsinski/Swidsinski 2004 World J
pdf\npapers2://publication/uuid/082A8AE3-17FB-4D42-94DE-96BC40E9FDB6
13. Sartor RB, Mazmanian SK. Intestinal Microbes in Inflammatory Bowel Diseases. *Am J Gastroenterol Suppl* [Internet]. 2012 Jul [cited 2014 Aug 22];1(1):15-21. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ajgsup.2012.4>
 14. Kostic AD, Xavier RJ, Gevers D. The microbiome in inflammatory bowel disease: current status and the future ahead. *Gastroenterology* [Internet]. 2014 May [cited 2014 Jul 13];146(6):1489-99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24560869>
 15. Li M, Wang M, Donovan SM. Early development of the gut microbiome and immune-mediated childhood disorders. *Semin Reprod Med* [Internet]. 2014 Jan [cited 2014 Aug 9];32(1):74-86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24390924>
 16. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* [Internet]. 2007 Jul [cited 2014 Jul 10];5(7):e177. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1896187&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 17. Rajilic-Stojanovic M, Heilig HG, Tims S, Zoetendal EG, de Vos WM. Long-term monitoring of the human intestinal microbiota composition. *Environ Microbiol*. 2012;
 18. IJssennagger N, Derrien M, van Doorn GM, Rijniere A, van den Bogert B, Müller M, et al. Dietary heme alters microbiota and mucosa of mouse colon without functional changes in host-microbe cross-talk. *PLoS One* [Internet]. 2012 Jan [cited 2014 Aug 8];7(12):e49868. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3519815&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 19. Liszt K, Zwielehner J, Handschur M, Hippe B, Thaler R, Haslberger AG. Characterization of bacteria, clostridia and Bacteroides in faeces of vegetarians using qPCR and PCR-DGGE fingerprinting. *Ann Nutr Metab* [Internet]. 2009 Jan [cited 2014 Aug 15];54(4):253-7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19641302>
 20. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2010 Aug 17 [cited 2014 Jul 9];107(33):14691-6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2930426&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 21. Erwin G, Zoetendal, Antoon D. L. Ak. The Host Genotype Affects the Bacterial Community in the Human Gastrointestinal Tract. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2001. p. 129-34.
 22. Hong SN, Rhee P-L. Unraveling the ties between irritable bowel syndrome and intestinal microbiota. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2014 Mar 14 [cited 2014 Jul 23];20(10):2470-81. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3949257&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 23. Mayer EA, Savidge T, Shulman RJ. Brain-gut microbiome interactions and functional bowel disorders. *Gastroenterology* [Internet]. 2014 May [cited 2014 Jul 18];146(6):1500-12. Available from:

- <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4114504&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
24. Guarner F, Malagelada J-R. Gut flora in health and disease. *Lancet*. 2003;361:512-9.
 25. Yamanaka T, Helgeland L, Farstad IN, Fukushima H, Midtvedt T, Brandtzaeg P. Microbial colonization drives lymphocyte accumulation and differentiation in the follicle-associated epithelium of Peyer's patches. *J Immunol*. 2003;170(2):816-22.
 26. Brown K, DeCoffe D, Molcan E, Gibson DL. Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease. *Nutrients* [Internet]. 2012 Aug [cited 2014 Jul 10];4(8):1095-119. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3448089&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 27. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature* [Internet]. 2013;500(7461):232-6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23842501>
 28. Chan YK, Estaki M, Gibson DL. Clinical consequences of diet-induced dysbiosis. *Ann Nutr Metab* [Internet]. 2013 Jan [cited 2014 Jul 31];63 Suppl 2:28-40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24217034>
 29. Sartor RB. Microbial Influences in Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2008;134(2):577-94.
 30. De Kivit S, Tobin MC, Forsyth CB, Keshavarzian A, Landay AL. Regulation of Intestinal Immune Responses through TLR Activation: Implications for Pro- and Prebiotics. *Front Immunol* [Internet]. 2014 Jan [cited 2014 Jul 9];5:60. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3927311&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 31. Hyland NP, Quigley EM, Brint E. Microbiota-host interactions in irritable bowel syndrome: Epithelial barrier, immune regulation and brain-gut interactions. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2014 Jul 21 [cited 2014 Aug 6];20(27):8859-66. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4112904&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 32. Abreu MT, Vora P, Faure E, Thomas LS, Arnold ET, Arditi M. Decreased expression of Toll-like receptor-4 and MD-2 correlates with intestinal epithelial cell protection against dysregulated proinflammatory gene expression in response to bacterial lipopolysaccharide. *J Immunol*. 2001;167:1609-16.
 33. Hold GL. Role of the gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: What have we learnt in the past 10 years? *World J Gastroenterol* [Internet]. 2014 Feb 7 [cited 2014 Nov 19];20(5):1192. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3921503&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 34. Bäckhed F. Host responses to the human microbiome. *Nutr Rev* [Internet]. 2012 Aug [cited 2014 Dec 15];70 Suppl 1:S14-7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22861802>
 35. Choung RS, Locke GR. Epidemiology of IBS. *Gastroenterol Clin North Am*. 2011;40:1-10.

36. Dai C, Zheng C-Q, Jiang M, Ma X-Y, Jiang L-J. Probiotics and irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2013 Sep 28 [cited 2014 Jul 13];19(36):5973-80. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3785618&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
37. Lee YJ, Park KS. Irritable bowel syndrome: emerging paradigm in pathophysiology. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2014 Mar 14 [cited 2014 Jul 27];20(10):2456-69. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3949256&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
38. El-Salhy M. Irritable bowel syndrome: diagnosis and pathogenesis. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2012 Oct 7 [cited 2014 Aug 10];18(37):5151-63. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3468846&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
39. Balsari A, Ceccarelli A, Dubini F, Fesce E, Poli G. The fecal microbial population in the irritable bowel syndrome. *Microbiologica*. 1982;5:185-94.
40. Si J-M, Yu Y-C, Fan Y-J, Chen S-J. Intestinal microecology and quality of life in irritable bowel syndrome patients. *World J Gastroenterol*. 2004;10:1802-5.
41. Malinen E, Rinttilä T, Kajander K, Matto J, Kassinen A, Krogus L, et al. Analysis of the fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients and healthy controls with real-time PCR. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2005;100:373-82. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15667495
42. Carroll IM, Ringel-Kulka T, Siddle JP, Ringel Y. Alterations in composition and diversity of the intestinal microbiota in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* [Internet]. 2012 Jun [cited 2014 Aug 9];24(6):521-30, e248. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3975596&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
43. Kassinen A, Krogus-Kurikka L, Mäkituokko H, Rinttilä T, Paulin L, Corander J, et al. The Fecal Microbiota of Irritable Bowel Syndrome Patients Differs Significantly From That of Healthy Subjects. *Gastroenterology*. 2007;133(1):24-33.
44. Jeffery IB, O'Toole PW, Öhman L, Claesson MJ, Deane J, Quigley EMM, et al. An irritable bowel syndrome subtype defined by species-specific alterations in faecal microbiota. *Gut* [Internet]. 2012 Jul [cited 2015 Jan 22];61(7):997-1006. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22180058>
45. Rajilić-Stojanović M, Biagi E, Heilig HGHJ, Kajander K, Kekkonen RA, Tims S, et al. Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. 2011;141:1792-801.
46. Jalanka-Tuovinen J, Salonen A, Nikkilä J, Immonen O, Kekkonen R, Lahti L, et al. Intestinal microbiota in healthy adults: Temporal analysis reveals individual and common core and relation to intestinal symptoms. *PLoS One*. 2011;6.
47. König J, Brummer RJ. Alteration of the intestinal microbiota as a cause of and a potential therapeutic option in irritable bowel syndrome. *Benef Microbes* [Internet]. 2014 Sep [cited 2014 Aug 9];5(3):247-61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24583610>

48. Pimentel M, Chow EJ, Lin HC. Eradication of small intestinal bacterial overgrowth reduces symptoms of irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol*. 2000;95:3503-6.
49. Ohman L, Simrén M. Intestinal microbiota and its role in irritable bowel syndrome (IBS). *Curr Gastroenterol Rep [Internet]*. 2013 May [cited 2014 Aug 5];15(5):323. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23580243>
50. Lupascu A, Gabrielli M, Lauritano EC, Scarpellini E, Santoliquido A, Cammarota G, et al. Hydrogen glucose breath test to detect small intestinal bacterial overgrowth: a prevalence case-control study in irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005;22:1157-60.
51. Shah ED, Basseri RJ, Chong K, Pimentel M. Abnormal breath testing in IBS: A meta-analysis. *Digestive Diseases and Sciences*. 2010. p. 2441-9.
52. Ford AC, Spiegel BMR, Talley NJ, Moayyedi P. Small intestinal bacterial overgrowth in irritable bowel syndrome: systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7:1279-86.
53. Connolly L, Chang L. Combined orocecal scintigraphy and lactulose hydrogen breath testing demonstrate that breath testing detects orocecal transit, not small intestinal bacterial overgrowth in patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. 2011. p. 1118-21.
54. Beatty JK, Bhargava A, Buret AG. Post-infectious irritable bowel syndrome: mechanistic insights into chronic disturbances following enteric infection. *World J Gastroenterol [Internet]*. 2014 Apr 14 [cited 2014 Aug 8];20(14):3976-85. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3983453&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
55. Halvorson HA, Schlett CD, Riddle MS. Postinfectious irritable bowel syndrome--a meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:1894-9; quiz 1942.
56. Thabane M, Kottachchi DT, Marshall JK. Systematic review and meta-analysis: The incidence and prognosis of post-infectious irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;26:535-44.
57. Simrén M, Axelsson J, Gillberg R, Abrahamsson H, Svedlund J, Björnsson ES. Quality of life in inflammatory bowel disease in remission: The impact of IBS-like symptoms and associated psychological factors. *Am J Gastroenterol*. 2002;97:389-96.
58. Ford AC, Talley NJ. Mucosal inflammation as a potential etiological factor in irritable bowel syndrome: A systematic review. *Journal of Gastroenterology*. 2011. p. 421-31.
59. Brint EK, MacSharry J, Fanning A, Shanahan F, Quigley EMM. Differential expression of toll-like receptors in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol*. 2011;106:329-36.
60. McKernan DP, Gaszner G, Quigley EM, Cryan JF, Dinan TG. Altered peripheral toll-like receptor responses in the irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011;33:1045-52.
61. Langhorst J, Junge A, Rueffer A, Wehkamp J, Foell D, Michalsen A, et al. Elevated Human b-Defensin-2 Levels Indicate an Activation of the Innate Immune System in Patients With Irritable Bowel Syndrome. *Am J Gastroenterol [Internet]*. 2009;104(2):404-10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2008.86>

62. Schoepfer AM, Schaffer T, Seibold-Schmid B, Müller S, Seibold F. Antibodies to flagellin indicate reactivity to bacterial antigens in IBS patients. *Neurogastroenterol Motil.* 2008;20(10):1110-8.
63. Cuomo R, Andreozzi P, Zito FP, Passananti V, De Carlo G, Sarnelli G. Irritable bowel syndrome and food interaction. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2014 Jul 21 [cited 2014 Aug 4];20(27):8837-45. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4112903&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
64. Treem WR, Ahsan N, Kastoff G, Hyams JS. Fecal short-chain fatty acids in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome: in vitro studies of carbohydrate fermentation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1996;23:280-6.
65. Barrett JS, Gibson PR. Fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides and polyols (FODMAPs) and nonallergic food intolerance: FODMAPs or food chemicals? *Therap Adv Gastroenterol* [Internet]. 2012 Jul [cited 2014 Jul 14];5(4):261-8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3388522&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
66. Fukumoto S, Tatewaki M, Yamada T, Fujimiya M, Mantyh C, Voss M, et al. Short-chain fatty acids stimulate colonic transit via intraluminal 5-HT release in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2003;284:R1269-76.
67. Kamath PS, Hoepfner MT, Phillips SF. Short-chain fatty acids stimulate motility of the canine ileum. *Am J Physiol.* 1987;253:G427-33.
68. Moayyedi P, Ford AC, Talley NJ, Cremonini F, Foxx-Orenstein AE, Brandt LJ, et al. The efficacy of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review. *Gut.* 2010;59:325-32.
69. Brenner DM, Moeller MJ, Chey WD, Schoenfeld PS. The utility of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review. *Am J Gastroenterol.* 2009;104:1033-49; quiz 1050.
70. Mahony L, Mccarthy J, Kelly P, Hurley G, Luo F, Chen K, et al. Lactobacillus and Bifidobacterium in irritable bowel syndrome: Symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology.* 2005;128:541-51.
71. Macfarlane GT, Steed H, Macfarlane S. Bacterial metabolism and health-related effects of galacto-oligosaccharides and other prebiotics. *Journal of Applied Microbiology.* 2008. p. 305-44.
72. Ramirez-Farias C, Slezak K, Fuller Z, Duncan A, Holtrop G, Louis P. Effect of inulin on the human gut microbiota: stimulation of *Bifidobacterium adolescentis* and *Faecalibacterium prausnitzii*. *Br J Nutr* [Internet]. 2009;101(4):541-50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18590586>
73. Whelan K, Quigley EMM. Probiotics in the management of irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* [Internet]. 2013 Mar [cited 2014 Jul 25];29(2):184-9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23286925>
74. Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK. Long-term ecological impacts of antibiotic administration on the human intestinal microbiota. *ISME J* [Internet]. 2007 May [cited 2014 Jul 18];1(1):56-66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18043614>

75. Pimentel M, Lembo A, Chey WD, Zakko S, Ringel Y, Yu J, et al. Rifaximin therapy for patients with irritable bowel syndrome without constipation. *The New England journal of medicine*. 2011.
76. Sharara AI, Aoun E, Abdul-Baki H, Mounzer R, Sidani S, Elhajj I. A randomized double-blind placebo-controlled trial of rifaximin in patients with abdominal bloating and flatulence. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:326-33.
77. Cheng J, Ma X, Gonzalez FJ. Pregnane X receptor- and CYP3A4-humanized mouse models and their applications. *British Journal of Pharmacology*. 2011. p. 461-8.
78. Cheng JF, Ning YJ, Zhang W, Lu ZH, Lin L. T300A polymorphism of ATG16L1 and susceptibility to inflammatory bowel diseases: A meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2010;16(10):1258-66.
79. Ventura M, Turrone F, Canchaya C, Vaughan EE, O'Toole PW, van Sinderen D. Microbial diversity in the human intestine and novel insights from metagenomics. *Front Biosci (Landmark Ed [Internet]*. 2009 Jan [cited 2014 Aug 15];14:3214-21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19273267>
80. Sellon RK, Tonkonogy S, Schultz M, Dieleman LA, Grenther W, Balish E, et al. Resident enteric bacteria are necessary for development of spontaneous colitis and immune system activation in interleukin-10-deficient mice. *Infect Immun*. 1998;66(11):5224-31.
81. Benjamin J, Makharia GK, Ahuja V, Kalaivani M, Joshi YK. Intestinal permeability and its association with the patient and disease characteristics in Crohn's disease. *World J Gastroenterol*. 2008;14:1399-405.
82. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux J-J, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(43):16731-6.
83. Darfeuille-Michaud A, Neut C, Barnich N, Lederman E, Di Martino P, Desreumaux P, et al. Presence of adherent *Escherichia coli* strains in ileal mucosa of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1998;115(6):1405-13.
84. Ohkusa T, Sato N, Ogihara T, Morita K, Ogawa M, Okayasu I. *Fusobacterium varium* localized in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis stimulates species-specific antibody. *J Gastroenterol Hepatol*. 2002;17(8):849-53.
85. Ohkusa T, Okayasu I, Ogihara T, Morita K, Ogawa M, Sato N. Induction of experimental ulcerative colitis by *Fusobacterium varium* isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *Gut*. 2003;52(1):79-83.
86. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104:13780-5.
87. Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, et al. Low counts of *faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15:1183-9.
88. Balzola F, Cullen G, Ho GT, Russell RK, Wehkamp J. Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory Bowel Disease Monitor*. 2012. p. 73.

89. Kim SC, Tonkonogy SL, Albright CA, Tsang J, Balish EJ, Braun J, et al. Variable phenotypes of enterocolitis in interleukin 10-deficient mice monoassociated with two different commensal bacteria. *Gastroenterology*. 2005;128:891-906.
90. Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, et al. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature* [Internet]. 2012;491:119-24. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3491803&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
91. Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, et al. Host recognition of bacterial muramyl dipeptide mediated through NOD2: Implications for Crohn's disease. *J Biol Chem*. 2003;278:5509-12.
92. Van Heel DA, Hunt KA, King K, Ghosh S, Gabe SM, Mathew CG, et al. Detection of muramyl dipeptide-sensing pathway defects in patients with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12:598-605.
93. Balzola F, Bernstein C, Van Assche G. Nod2 is required for the regulation of commensal microbiota in the intestine: Commentary. *Inflamm Bowel Dis Monit*. 2010;10(3):100-1.
94. Hampe J, Franke A, Rosenstiel P, Till A, Teuber M, Huse K, et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet*. 2007;39(2):207-11.
95. Cario E, Podolsky DK. Differential alteration in intestinal epithelial cell expression of toll-like receptor 3 (TLR3) and TLR4 in inflammatory bowel disease. *Infect Immun*. 2000;68(12):7010-7.
96. Swidsinski A, Ladhoff A, Pernthaler A, Swidsinski S, Loening-Baucke V, Ortner M, et al. Mucosal flora in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2002;122:44-54.