

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

# **Microbiota intestinal na Doença Inflamatória Intestinal**

Ana Isabel Magalhães Soares

**M**

2022



# **Microbiota intestinal na Doença Inflamatória Intestinal**

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto

**Estudante:** Ana Isabel Magalhães Soares

Número de estudante: 201603945

6º ano do Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Endereços de correio eletrónico: [anaimsoares73@gmail.com](mailto:anaimsoares73@gmail.com); [up201603945@edu.icbas.up.pt](mailto:up201603945@edu.icbas.up.pt)

**Orientadora:** Dr.ª Marta Salgado Rodrigues

Assistente Hospitalar Graduada de Gastrenterologia, no Centro Hospitalar Universitário do Porto  
Professora auxiliar convidada da Unidade Curricular de Medicina I e Especialidades Médicas, do Mestrado Integrado em Medicina do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

**Coorientador:** Professor Doutor Fernando Manuel de Castro Poças

Assistente Hospitalar Graduado Sénior de Gastrenterologia, no Centro Hospitalar Universitário do Porto

Diretor da Consulta Externa, no Centro Hospitalar Universitário do Porto

Adjunto do Diretor Clínico, no Centro Hospitalar Universitário do Porto

Professor Catedrático, convidado, com agregação, no Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.

Regente da Unidade Curricular de Medicina I e Especialidades Médicas, no Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.

Adjunto da Diretora Pedagógica e Científica, no Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

Maio de 2022

Anna Isabel Haganhaes Soares

(Assinatura da Estudante)

Clara Sílvia Rodrigues

(Assinatura da Orientadora)

Fernando Manuel Castro Faria

(Assinatura do Coorientador)

Maio de 2022

## Agradecimentos

Na reta final desta tão longa e gratificante jornada, não poderei deixar de exprimir a minha gratidão a todos aqueles que contribuíram para este percurso, na certeza que só na partilha o caminho se percorre.

Em primeira instância, gostaria de deixar a minha palavra de agradecimento à Dr.<sup>a</sup> Marta Salgado por me ter acolhido sem hesitação na orientação desta dissertação, pelo contributo com o seu vasto conhecimento científico na revisão da mesma bem como pela disponibilidade e simpatia com que sempre garantiu o auxílio necessário em todas as etapas. Não poderia deixar de referir que, num momento tão desafiador como estudante de medicina, como foi o da aprendizagem à distância em época de confinamento, a professora Marta destacou-se pela dedicação e excelência com que conseguiu transmitir os conhecimentos da prática clínica, aproximando os alunos da realidade hospitalar. O meu muito obrigada por, apesar de todos os obstáculos inerentes a esta fase, me ter contagiado com o gosto pela Gastreenterologia.

Ao Professor Doutor Castro Poças por ter coorientado a presente tese com total disponibilidade e, acima de tudo, por ser um exemplo de brio e total entrega nas suas valências como médico e docente, deixando uma marca em todos os alunos que têm o privilégio de contactar com o professor.

À minha família, o meu porto seguro em todas as alturas, não existem palavras suficientes para demonstrar o quão grata sou por todo o amor, apoio, paciência e ajuda bem como pela forma como me educaram e estiveram sempre presentes para me ver crescer. Sem vocês nada disto seria possível, razão pela qual esta conquista é também vossa!

Às minhas amigas de infância, pelo apoio incondicional em todos os momentos, incluindo aqueles em que as circunstâncias me impediram de estar presente, e por me provarem que a amizade se perpetua independentemente dos caminhos escolhidos.

Aos meus amigos de curso, por serem o meu suporte e companheiros de viagem e por encherem os últimos 6 anos com memórias que me encham o coração. Saio deste curso com a certeza que levo comigo amizades para uma vida.

A todos os outros docentes, profissionais das instituições que completaram o meu percurso e aos restantes membros da comunidade académica estou muito grata pela experiência que me proporcionaram e pelo seu contributo essencial à minha formação.

Ao ICBAS, por mais do que uma faculdade que me formou como profissional, se ter assumido uma segunda casa que me acolheu e me fez crescer também como pessoa, inculcando-me valores que, independentemente do que o futuro me reserve, levo comigo para a vida.

Finalmente, a todos os pacientes que tiveram a generosidade de partilhar comigo aquilo que lhes é mais vulnerável em prol da minha aprendizagem. A eles, que são as pessoas centrais e pelas quais faz sentido ultrapassar todos os obstáculos, um imenso obrigada.

## Resumo

**Introdução:** A Doença Inflamatória Intestinal (DII) é uma patologia com uma prevalência crescente na população e que permanece um desafio clínico no que concerne ao seu diagnóstico, controlo da evolução e abordagem terapêutica. A influência da microbiota intestinal tem sido recentemente realçada no processo multifatorial que está na base do desenvolvimento da patologia, proporcionando a oportunidade de investigação de ferramentas de diagnóstico e terapêutica que colmatem as necessidades atuais da gestão clínica da DII.

**Objetivos:** Revisão bibliográfica do contributo da microbiota intestinal na complexa fisiopatologia da DII com vista a identificar possíveis biomarcadores diagnósticos, preditores e prognósticos da doença. Adicionalmente, visa perceber-se se a intervenção ao nível da microbiota intestinal pode constituir uma potencial estratégia terapêutica nesta complexa patologia.

**Metodologia:** Pesquisa bibliográfica de artigos científicos com recurso ao motor de pesquisa de publicações médico-científicas Pubmed segundo a utilização, de forma isolada ou em combinação, das palavras-chave infracitadas. Após a leitura e análise crítica dos títulos e *abstract*, foram selecionadas as publicações com maior relevância científica e atualidade de acordo com os objetivos propostos para esta revisão bibliográfica.

**Desenvolvimento:** A microbiota intestinal comprova-se uma das componentes da fisiopatologia da DII revelando-se a diminuição das bactérias *Firmicutes* e o aumento das do filo *Proteobacteria* as alterações globalmente mais evidenciadas. As alterações verificadas na composição da flora microbiana dos pacientes afirmam-se uma base de dados promissora para o desenvolvimento de biomarcadores diagnósticos, sendo a *Collinsella* e a *Nocardiopsis dassonvillei* apontadas como potenciais diferenciadores entre a Colite Ulcerosa (CU) e a Doença de Crohn (DC). Simultaneamente, a gravidade destas patologias demonstra ser potencialmente presumida pela proporção dos constituintes da microbiota intestinal, sendo os *Clostridiales* possíveis preditores da resposta ao Infliximab. No que concerne ao tratamento, a CU assume-se a patologia no qual a intervenção na microbiota intestinal mostra evidências de benefício, com ensaios clínicos que comprovam a eficácia dos probióticos e outros que apoiam a futura utilização do transplante de microbiota fecal neste contexto.

**Conclusão:** A aposta na uniformização das técnicas escolhidas para a avaliação da constituição da microbiota intestinal aliada ao esclarecimento dos resultados obtidos relativamente à sua influência na DII assume-se a principal necessidade neste âmbito. Por sua vez, a execução de um maior número de ensaios clínicos com foco na microbiota intestinal como vetor para criação de

biomarcadores e alternativas terapêuticas pode constituir a solução para a otimização e personalização da gestão da CU e DC.

**Palavras-chave:** Doença Inflamatória Intestinal; Doença de Crohn; Colite Ulcerosa; Microbiota Intestinal; Disbiose; Biomarcadores; Probióticos; Prebióticos; Transplante Microbiota Fecal.

## Abstract

**Introduction:** Inflammatory Bowel Disease (IBD) is a condition with a growing prevalence in the population and that remains a clinical challenge regarding its diagnostic, management and therapeutic approach. The influence of the gut microbiota has recently been highlighted in the multifactorial process underlying the development of the disease, providing the opportunity to investigate diagnostic and therapeutic tools that address the current needs of IBD clinical management.

**Objectives:** Literature review on the contribution of the gut microbiota in the complex pathophysiology of IBD in order to identify possible diagnostic, predictive and prognostic biomarkers of the disease. Additionally, we aim to understand if the intervention at the gut microbiota level can be a potential therapeutic strategy in this complex pathology.

**Methods:** Bibliographic search of scientific articles using the Pubmed search engine for medical-scientific publications according to the use, alone or in combination, of the keywords mentioned below. After reading and critical analysis of the titles and abstracts, the publications with greater scientific and current relevance were selected according to the objectives proposed for this literature review.

**Results:** The gut microbiota has proven to be one of the components of IBD pathophysiology, with a decrease in *Firmicutes* bacteria and an increase in the phylum *Proteobacteria* being the most evident changes. The changes verified in the composition of the gut microbiota of the patients are a promising database for the development of diagnostic biomarkers, with *Collinsella* and *Nocardiopsis dassonvillei* indicated as potential differentiators between Ulcerative Colitis (UC) and Crohn's disease (CD). Simultaneously, the severity of these conditions is potentially predicted by the proportion of the components of the gut microbiota, with *Clostridiales* being possible predictors of response to Infliximab, which is one of the central drugs in the therapeutic approach of IBD. With regard to treatment, UC is the condition in which intervention in the gut microbiota shows evidence of benefit, with clinical trials showing the effectiveness of probiotics and other publications supporting the future use of fecal microbiota transplantation in this context.

**Conclusion:** The main need in this area is to standardize the techniques chosen to assess the constitution of the gut microbiota together with the clarification of the results obtained regarding its influence on IBD. In addition, the implementation of more clinical trials focusing on the gut microbiota as a vector for the creation of biomarkers and therapeutic alternatives may be the solution to optimize and customize the management of UC and CD.

**Keywords:** Inflammatory Bowel Disease; Crohn's Disease; Ulcerative Colitis; Gut Microbiota; Dysbiosis; Biomarkers; Probiotics; Prebiotics; Fecal Microbiota Transplantation.

## Lista de Abreviaturas

**AGCC:** Ácidos gordos de cadeia curta

**AUC:** *Area under the receiver operating characteristic curve*

**CU:** Colite Ulcerosa

**DC:** Doença de Crohn

**DII:** Doença Inflamatória Intestinal

**EcN:** *Escherichia coli* Nissle 1917

**NF-  $\kappa$ B:** Fator nuclear  $\kappa$ B

**MAM:** Molécula anti-inflamatória microbiana

**MPS-MH:** *Microbial predictive score for mucosal healing*

**PDAI:** Índice de atividade da doença da bursite

**PM:** Precisão media

**TMF:** Transplante de microbiota fecal

**TNF- $\alpha$ :** Fator de necrose tumoral  $\alpha$

**UCDAI:** Índice de Atividade de Doença de Colite Ulcerosa

**WGS:** Sequenciação completa do genoma

**16S rRNA:** RNA ribossomal 16S

## Índice

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	ii
Abstract.....	iv
Lista de Abreviaturas.....	vi
Lista de Tabelas .....	viii
Lista de Figuras.....	ix
Introdução.....	1
1. Definição de Doença Inflamatória Intestinal .....	1
2. Epidemiologia da Doença Inflamatória Intestinal.....	1
3. Classificação da Doença Inflamatória Intestinal .....	2
4. Diagnóstico de Doença Inflamatória Intestinal.....	2
5. Etiologia e Fisiopatologia da Doença Inflamatória Intestinal.....	3
6. Tratamento da Doença Inflamatória Intestinal .....	4
Objetivos .....	7
Metodologia.....	7
Desenvolvimento .....	8
1. Microbiota intestinal na fisiopatologia da Doença Inflamatória Intestinal.....	8
2. Microbiota intestinal como biomarcador da Doença Inflamatória Intestinal .....	14
2.1. Marcador para diagnóstico de Doença Inflamatória Intestinal e distinção das patologias .....	14
2.2. Marcador preditor de atividade da doença.....	17
2.3. Marcador preditor de resposta terapêutica .....	19
3. Microbiota intestinal como alvo terapêutico da Doença Inflamatória Intestinal .....	21
3.1. Transplante de microbiota fecal na Colite Ulcerosa e Doença de Crohn .....	21
3.2. Pré e probióticos na Colite Ulcerosa e Doença de Crohn .....	23
3.3. Dieta na Colite Ulcerosa e Doença de Crohn.....	25
Conclusão.....	26
Bibliografia .....	28
Anexos.....	33

## Lista de Tabelas

[Tabela I] - Classificação de Montreal da Doença de Crohn.....	33
[Tabela II] - Classificação de Montreal da Colite Ulcerosa.....	33
[Tabela III] - Comparação das características diagnósticas da Colite Ulcerosa e Doença de Crohn.....	34
[Tabela IV] - Fatores ambientais implicados na fisiopatologia da Doença Inflamatória Intestinal.....	35
[Tabela V] - Fatores prognósticos na Doença de Crohn e o seu impacto na evolução da doença.....	35
[Tabela VI] - Fatores prognósticos na Colite Ulcerosa e o seu impacto na evolução da doença.....	36
[Tabela VII] - Resultados da area under the curve e precisão média dos modelos constituintes do LightCUD.....	36
[Tabela VIII] - Alterações na microbiota intestinal características do grau de gravidade da Doença Inflamatória Intestinal.....	37
[Tabela IX] - Alterações na microbiota intestinal características do comportamento da Doença de Crohn.....	37
[Tabela X] - Elementos distintivos na constituição da microbiota intestinal inicial dos pacientes com e sem resposta ao Infliximab.....	38
[Tabela XI] - Outcomes primários e secundários à 8ª semana do ensaio clínico FOCUS.....	38

## Lista de Figuras

[Figura 1] - Fenótipos da Doença de Crohn de acordo com a Classificação de Montreal.....	39
[Figura 2] - Fenótipos da Colite Ulcerosa de acordo com a Classificação de Montreal.....	39
[Figura 3] - Características macroscópicas da Doença Inflamatória Intestinal.....	40
[Figura 4] - Características microscópicas da Doença Inflamatória Intestinal.....	40
[Figura 5] - Interação dos fatores compreendidos na fisiopatologia da Doença Inflamatória Intestinal.....	41
[Figura 6] - Fatores genéticos implicados na Doença Inflamatória Intestinal e as vias imunológicas em que atuam.....	42
[Figura 7] - Proposta de Abordagem Terapêutica na Doença de Crohn.....	43
[Figura 8] - Proposta de Abordagem Terapêutica na Colite Ulcerosa.....	44
[Figura 9] - Funções da microbiota intestinal.....	45
[Figura 10] - Comparação da constituição da microbiota em indivíduos saudáveis face a doentes com Doença Inflamatória Intestinal.....	45
[Figura 11] - Géneros bacterianos com potencial discriminatório em indivíduos com Doença de Crohn, Colite Ulcerosa e saudáveis.....	46
[Figura 12] - Diversidade filogenética da microbiota das amostras fecais dos pacientes e dadores de microbiota fecal.....	46
[Figura 13] - Variação da diversidade da microbiota dos pacientes ao longo do estudo de Paramsothy et al.....	47
[Figura 14] - Comparação da proporção de recidiva nos pacientes tratados com <i>Escherichia coli Nissle</i> 1917 ou mesalazina.....	47
[Figura 15] - Comparação da evolução clínica do grupo tratado com VSL#3 face ao grupo controlo.....	48
[Figura 16] - Índice de atividade da doença da bursite (PDAI) na sua profilaxia com VSL#3 face ao grupo controlo.....	48

# Introdução

## 1. Definição de Doença Inflamatória Intestinal

A Doença Inflamatória Intestinal (DII) constitui uma entidade patológica determinada pela inflamação imunomediada do trato gastrointestinal, na qual se integram duas patologias primordiais: a Doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerosa (CU).<sup>1,2</sup> A evolução crónica inerente a estas patologias, caracterizada pela alternância entre períodos de exacerbação e remissão, é responsável por um elevado grau de morbilidade, o que confere aos doentes afetados pelas mesmas um impacto significativo na sua qualidade de vida.<sup>3</sup>

## 2. Epidemiologia da Doença Inflamatória Intestinal

A DII tem vindo a assumir uma importância crescente, ao longo da última década, dado o aumento da incidência da mesma a nível mundial, presumivelmente, resultante da recente industrialização e evolução da capacidade diagnóstica dos países em desenvolvimento.<sup>4,5</sup> Não obstante, a Europa mantém-se, à semelhança da América do Norte, o continente com maior prevalência da doença, estimando-se que existam 2,5-3 milhões de pacientes europeus com o diagnóstico de DII, o equivalente a cerca de 0,3% da população.<sup>4</sup> Portugal não se desvia deste padrão, sendo a percentagem estimada de pessoas diagnosticadas com DII no país em 2019 de 0,24-0,33%, estando previsto um aumento desta prevalência para 0,32-0,49% até 2030.<sup>6</sup>

Embora a DII se possa manifestar em qualquer idade, a sua apresentação inicial dá-se maioritariamente entre a 2ª e 4ª década de vida. Pode, adicionalmente, surgir um segundo pico de incidência, especialmente na CU, entre os 60 e os 70 anos, assumindo assim a incidência desta patologia, quanto à idade, uma distribuição bimodal.<sup>4,7</sup>

Desta forma, o aumento evidente da prevalência que se tem objetivado recentemente é reflexo do curso crónico de uma patologia de diagnóstico precoce e com baixa mortalidade, encontrando-se este aumento dependente do aumento da incidência da patologia e do envelhecimento da população.<sup>4</sup> Este aumento de prevalência apresenta, conseqüentemente, um importante impacto a nível económico, principalmente quando atendemos aos custos dos fármacos biológicos cada vez mais utilizados, bem como repercussões ao nível da gestão da doença dada a necessidade crescente de tratar doentes com múltiplas comorbilidades, fruto do avançar da idade.<sup>8</sup>

### 3. Classificação da Doença Inflamatória Intestinal

Apesar da partilha alargada de características, a DC e a CU apresentam traços distintivos ao nível da predisposição genética, fatores de risco bem como aspetos clínicos, endoscópicos e histológicos que as permitem reconhecer.<sup>9</sup>

Neste sentido, o padrão inflamatório de cada uma das patologias assume-se um dos principais fatores identificadores das mesmas. A DC é marcada por uma inflamação de carácter descontínuo com potencial para se dispersar de forma segmentar ao longo de todo o trato gastrointestinal, sendo o cólon e o íleo terminal as localizações mais frequentemente lesadas. O seu atingimento transmural com o envolvimento de todas as camadas constituintes da parede intestinal explica a associação frequente desta patologia a estenoses, fístulas e abscessos que constituem as suas principais complicações.<sup>10,11</sup>

A CU, por sua vez, tem a si inerente uma inflamação tipicamente restrita à superfície mucosa com uma localização limitada ao nível do reto e cólon. O seu atingimento adquire um perfil ascendente e de carácter contínuo, cuja extensão é variável. Assim, esta patologia pode apresentar-se ao longo de um espectro cuja progressão varia desde uma proctite a uma pancolite.<sup>9,12</sup>

Dada a heterogeneidade de apresentação e comportamento da CU e DC, estas são classificadas com base no seu fenótipo pela classificação de Montreal para a sua estratificação. [Tabela I e II]<sup>13</sup>

### 4. Diagnóstico de Doença Inflamatória Intestinal

O diagnóstico da DII exige a integração de uma avaliação clínica completa associada a parâmetros laboratoriais séricos e fecais bem como a exames endoscópicos e histopatológicos confirmatórios.<sup>12,14,15</sup>

A história clínica do paciente permanece o ponto de partida fulcral para a identificação da DC e CU, devendo existir particular atenção aos sintomas apresentados assim como à sua cronologia.<sup>12</sup> O sintoma dominante dos quadros clínicos de ambas as patologias corresponde a diarreia, tipicamente, com um tempo de evolução superior a 6 semanas.<sup>12,14,15</sup>

A presença de sangue nas fezes está patente na maioria dos casos de CU, podendo manifestar-se igualmente na DC quando há atingimento do cólon.<sup>11,15-17</sup> Sintomas constitucionais como fadiga, anorexia, perda de peso e febre são também comuns às duas formas principais de DII.<sup>10,11,16</sup>

A presença de urgência fecal, tenesmo, incontinência e muco nas fezes, por sua vez, são manifestações que direcionam para o diagnóstico de CU.<sup>12,16,17</sup> Em contrapartida, a presença de dor abdominal, particularmente no quadrante inferior direito e a doença perianal com o surgimento de fístulas são sugestivas de DC.<sup>11,15</sup>

A combinação de sintomas apresentada por cada doente corresponde a um reflexo do comportamento e gravidade da sua doença bem como da sua extensão [Figuras 1 e 2].<sup>11,16</sup>

A nível laboratorial, a investigação bioquímica assume um papel relevante para a avaliação da gravidade da patologia bem como para a deteção de algumas das complicações que lhe podem estar associadas. Dos parâmetros a investigar a calprotectina fecal mantém-se o marcador de inflamação intestinal com maior correlação com a atividade da DII pelo que detém um valor importante quer a nível do diagnóstico inicial, quer no acompanhamento da evolução da doença e da sua resposta ao tratamento instituído. Note-se, no entanto, que este marcador carece de especificidade no que concerne à distinção entre as diferentes causas de inflamação intestinal pelo que a procura por outros marcadores mais específicos mantém-se uma temática particularmente pertinente no âmbito do diagnóstico da DII.<sup>14-16</sup>

A realização de ileocolonosopia com conseqüente estudo histopatológico para avaliação das características inflamatórias macroscópicas e microscópicas típicas [Figuras 3 e 4] está indicada em todos os casos de suspeita de DII e é indispensável ao seu diagnóstico.<sup>11,14,16,18</sup>

A sistematização dos diferentes achados clínicos e de exames complementares de diagnóstico facilita a distinção entre as duas patologias [Tabela III].<sup>3</sup>

O restante estudo de investigação, nomeadamente o recurso a outros exames imagiológicos, deve ser personalizado de acordo com a história clínica do paciente e com os resultados dos restantes exames supramencionados.<sup>12,14</sup>

## **5. Etiologia e Fisiopatologia da Doença Inflamatória Intestinal**

Embora a compreensão global da fisiopatologia da DII se assuma ainda um desafio na atualidade, a literatura mais recente revela que esta é resultante da complexa interação de diferentes variáveis, das quais se destacam os fatores genéticos, ambientais, a microbiota intestinal e a conseqüente resposta imunológica do paciente [Figura 5].<sup>19-22</sup>

Atendendo à maior incidência de casos de DII em elementos da mesma família, às diferenças étnicas na prevalência da doença e ao elevado grau de concordância entre gémeos, o

papel da suscetibilidade genética na fisiopatologia da DII foi, desde cedo, descoberto.<sup>21</sup> A evolução das técnicas de sequenciação genética permitiu a confirmação desta hipótese com a identificação de mais de 240 *loci* de risco genético para a DII, 30 dos quais partilhados pela CU e DC.<sup>19</sup> A análise destes genes possibilitou, adicionalmente, compreender as vias nas quais estão implicados, das quais se destacam o controlo da função da barreira epitelial, a resposta imunológica inata e adaptativa ou a autofagia, todas estas essenciais à homeostasia intestinal. [Figura 6].<sup>19,21</sup> A presença de suscetibilidade genética para a DII não é, no entanto, suficiente, por si só, para desencadear o desenvolvimento da patologia, pelo que é imperativo que outros fatores adjuvantes estejam presentes.<sup>19</sup>

Tratando-se a DII de uma patologia de índole inflamatória, a resposta imunológica está naturalmente implicada na sua fisiopatologia, tendo o desequilíbrio do balanço entre a defesa inata e a adaptativa um papel central na génese e manutenção da mesma.<sup>2,19</sup> Neste âmbito, existem, no entanto, diferenças entre a DC e CU evidenciadas pelo maior envolvimento das células Th1 na DC face à maior contribuição das células Th2 no processo inflamatório da CU.<sup>2</sup>

Adicionalmente, as diferenças epidemiológicas patentes a nível mundial, como por exemplo a associação entre a maior incidência da patologia e os países industrializados, sugerem a intervenção de um componente ambiental no processo etiológico da DII. Nesta perspetiva, foram conduzidos diversos estudos que procuraram a compreensão dos efeitos de variados fatores ambientais na DC e CU, dos quais se ressaltam os representados na Tabela IV.<sup>19,22</sup>

A influência da microbiota intestinal neste processo, por sua vez, tem assumido, recentemente, um papel de destaque, resultado também dos avanços nas técnicas de sequenciação genética que têm contribuído em larga escala para compreender e confirmar o papel da disbiose como fator etiológico da DII.<sup>23-25</sup> O conhecimento cada vez mais aprofundado destas alterações incentiva a sua utilização na criação de potenciais biomarcadores com base na microbiota intestinal para a deteção precoce da doença, estratificação da sua gravidade, orientação de tratamento e prognóstico.<sup>26,27</sup>

## **6. Tratamento da Doença Inflamatória Intestinal**

Atendendo à cronicidade da DII, o tratamento a instituir deve ter como principais objetivos, para além da melhoria da qualidade de vida através do controlo sintomático e prevenção de complicações, minimizar a progressão da doença com o intuito de alcançar e manter a remissão da mesma.<sup>3,28</sup> Este estágio de remissão é definido pela cicatrização completa da mucosa, a resolução sintomática do quadro clínico e a normalização dos biomarcadores.<sup>28,29</sup>

Desta forma, a abordagem terapêutica da DII tem sido alvo de uma reforma nos últimos anos com a alteração do paradigma de tratamento tradicional de “*Step-up*”, que dava prioridade à utilização, numa fase inicial, de classes farmacológicas menos tóxicas e menos potentes como os corticosteroides, aminossalicilatos e antibióticos, para uma abordagem “*Top-down*” com a introdução cada vez mais precoce de imunomoduladores e terapêuticas biológicas.<sup>11,29</sup> Esta alteração surge como consequência da necessidade de interferir agressivamente em estádios iniciais da patologia com vista a alcançar o atraso na progressão da mesma e consequente modificação da sua história natural.<sup>11,16,29,30</sup> Não obstante, a estratégia terapêutica implementada deve ser sempre centrada no paciente, pelo que se deve adaptar individualmente às características de cada caso. Assim, dadas as complicações inerentes aos fármacos de maior potência, é de elevada relevância que se identifiquem os pacientes nos quais o benefício desta abordagem terapêutica supera os seus riscos, nomeadamente através da sua estratificação com recurso a fatores prognósticos. [Tabela V e VI]<sup>11,29</sup>

Adicionalmente, a própria localização, severidade da doença, a resposta a fármacos previamente utilizados, bem como a presença de complicações têm uma influência fulcral na escolha da terapêutica a instituir e na consequente otimização da gestão de cada paciente.<sup>30,31</sup>

Estes pressupostos permitem fundamentar a elaboração de linhas orientadoras de tratamento para cada uma das patologias [Figura 7 e 8].<sup>10,12</sup>

A monitorização dos resultados terapêuticos deve ser realizada de uma forma regular com recurso aos atuais marcadores de atividade da patologia que incluem, para além dos exames endoscópicos, outros exames menos invasivos dos quais se destacam os biomarcadores inflamatórios (proteína C reativa e calprotectina fecal) e os exames imagiológicos, de forma a realizar os ajustes necessários ao alcance do objetivo terapêutico estabelecido.<sup>29,30</sup>

No que concerne ao tratamento cirúrgico da DII, este mantém-se uma estratégia de fim de linha de tratamento pelas consequências a ela inerentes, devendo esta decisão ser discutida por um grupo multidisciplinar. Ainda assim, este tipo de intervenção mantém-se indispensável em cerca de 20-25% dos doentes com CU<sup>12</sup> e em 50% dos pacientes nos primeiros 10 anos de diagnóstico da DC<sup>10</sup> por falta de eficácia do tratamento farmacológico. Na CU as principais indicações para a colectomia resumem-se à refratariedade da patologia ao tratamento médico, intolerância aos fármacos disponíveis e malignidade associadas à CU.<sup>12</sup> Já no âmbito da DC, para além dos casos de resposta insatisfatória à abordagem médica e a intolerância à mesma, os candidatos à abordagem cirúrgica incluem frequentemente os doentes que desenvolvem complicações decorrentes da sua condição, das quais são exemplo as estenoses e fístulas.<sup>11</sup>

A nova visão da personalização do tratamento aliada aos recentes avanços na fisiopatologia da DII tem mantido pertinente a necessidade de estudar e descobrir novas opções terapêuticas específicas para as vias patogénicas até então desconhecidas, que possam complementar e fortalecer a qualidade dos cuidados prestados a estes pacientes.<sup>29</sup>

## Objetivos

Compreender o contributo da microbiota intestinal na complexa fisiopatologia da doença inflamatória intestinal com vista a identificar possíveis biomarcadores preditores ou prognósticos da doença. Adicionalmente, esta dissertação visa perceber se a intervenção ao nível da microbiota intestinal pode constituir uma potencial estratégia terapêutica nesta complexa patologia.

## Metodologia

A metodologia desta revisão bibliográfica consistiu na pesquisa bibliográfica de artigos científicos com recurso ao motor de pesquisa de publicações médico-científicas Pubmed segundo a utilização, de forma isolada ou em combinação, das seguintes palavras-chave: Doença Inflamatória Intestinal; Doença de Crohn; Colite Ulcerosa; Microbiota Intestinal; Disbiose; Biomarcadores; Probióticos; Prebióticos; Transplante Microbiota Fecal.

Foram selecionadas publicações redigidas em inglês e português, dando primazia aos artigos publicados na última década, salvo exceções indubitavelmente pertinentes.

O principal critério de inclusão foi a relevância científica e atualidade dos artigos de acordo com os objetivos propostos para esta revisão, sem restrição no tipo de artigo. Os principais critérios de exclusão incluíram artigos que não se enquadravam na temática em avaliação bem como os relativos à população pediátrica.

Após a leitura e análise crítica dos títulos e *abstract* das publicações encontradas, foram selecionadas as 64 publicações citadas para o desenvolvimento da presente dissertação.

## Desenvolvimento

### 1. Microbiota intestinal na fisiopatologia da Doença Inflamatória Intestinal

As inúmeras bactérias, vírus, fungos e protozoários que constituem a microbiota do intestino tornam este órgão o mais colonizado do organismo humano, correspondendo o genoma da microbiota intestinal a 100 vezes mais genes que o genoma do hospedeiro.<sup>19,23,25</sup> Num indivíduo saudável, cerca de 90% das bactérias integrantes da flora intestinal pertencem a dois filos predominantes, *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, seguidos das *Proteobacteria* e *Actinobacteria*, presentes em menor proporção.<sup>19,23-25</sup> O conjunto destes microorganismos é responsável por manter um ambiente de homeostasia, desempenhando papéis essenciais ao nível do metabolismo e regulação do sistema imunológico [Figura 9].<sup>23,25</sup>

Quando existe uma ruptura do equilíbrio da microbiota intestinal, frequentemente associada à dieta, utilização de inibidores das bombas de prótons ou antibióticos, podem surgir diversas doenças, entre as quais a DII.<sup>25</sup> De facto, os avanços tecnológicos na sequenciação genética, particularmente as técnicas de sequenciação de nova geração, têm conduzido a um esclarecimento do microbioma e conseqüentemente a um aumento das evidências que reconhecem a disbiose como um dos intervenientes ativos na fisiopatologia da DC e CU. Esta disbiose contempla diversas vertentes podendo ser evidente uma diminuição da biodiversidade da microbiota intestinal associada a um desequilíbrio no balanço da mesma, com um aumento na riqueza de espécies com potencial nocivo e uma diminuição das espécies protetoras do trato intestinal, bem como uma perturbação na estabilidade temporal da composição da flora intestinal.<sup>25,32</sup>

Uma das alterações mais significativamente investigada e reportada em diversos estudos é a depleção da espécie *Faecalibacterium prausnitzii* na constituição da flora intestinal de indivíduos quer com DC quer com CU face aos indivíduos saudáveis. Esta bactéria assegura 5% da totalidade da microbiota intestinal de indivíduos saudáveis pelo que se assume um elemento primordial como marcador de saúde neste âmbito.<sup>33</sup> Num estudo realizado por Wang et al. em que foi avaliada a constituição da microbiota intestinal através de amostras fecais e de biópsias de diferentes localizações intestinais constatou-se uma diminuição acentuada desta espécie do filo *Firmicutes* em todas as amostras em pacientes com DII ativa, com um ligeiro aumento da mesma na fase de remissão das patologias em relação à fase ativa.<sup>34</sup> Estes dados foram corroborados por uma meta-análise realizada por Prosberg et al. que inclui 6 estudos clínicos relativos à percentagem de *Faecalibacterium prausnitzii* na contagem total de bactérias intestinais. Embora

se verifique também uma tendência crescente desta espécie em pacientes em remissão, estes resultados não se mostram significativamente diferentes dos indivíduos com patologia ativa.<sup>35</sup> Um importante achado observado nas investigações deste âmbito é a redução mais intensificada de *Faecalibacterium prausnitzii* nos pacientes com o diagnóstico de DC quando comparados com os de CU, o que pode constituir um fator relevante na distinção das duas patologias.<sup>34,36</sup> A conexão entre a diminuição da prevalência de *F. prausnitzii* com a DII pensa-se estar relacionada com a própria função exercida por esta estirpe no trato intestinal. De facto, diversos estudos constataam que esta bactéria é uma das principais produtoras da microbiota intestinal de butirato, um ácido gordo de cadeia curta (AGCC), predominantemente presente no cólon, cujo produto de fermentação, o D-lactato, corresponde à principal fonte de energia das células epiteliais cólicas.<sup>34</sup> Assim, este AGCC assume um papel fundamental na contribuição para a integridade da barreira epitelial bem como na modulação imune dado que permite a regulação das células Treg e Th17.<sup>33,34,37</sup> Adicionalmente, *F. prausnitzii* revela efeitos anti-inflamatórios que excedem os anteriormente descritos, nomeadamente através do bloqueio da ativação do fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) nas células epiteliais intestinais que estará associado à produção de uma proteína por parte da *F. prausnitzii* denominada molécula anti-inflamatória microbiana (MAM).<sup>38</sup>

O decréscimo do filo *Firmicutes* na microbiota da DII deve-se supletivamente à menor contribuição de *Clostridium do cluster XIVa*, do qual é exemplo o *C. coccooides*. À semelhança do *F. prausnitzii*, esta estirpe revelou-se amplamente reduzida nas amostras de fezes de pacientes com DC e CU na sua fase ativa no estudo de Wang et al.<sup>34</sup> Nesta mesma análise verificou-se ainda uma propensão para o crescimento desta espécie na fase de remissão da patologia, o que sugere a possibilidade da proporção existente no intestino de *C. coccooides* influenciar a atividade da doença, a qual foi confirmada na meta-análise de Prosberg et al.<sup>34,35</sup> O *C. coccooides* e o *F. prausnitzii*, sendo integrantes dos grandes grupos de *Clostridium IV e XIVa*, partilham o mesmo mecanismo de atuação que compreende a produção de AGCC, supradescrita em maior detalhe.<sup>23</sup>

A *Roseburia* trata-se de um outro género bacteriano compreendido no filo *Firmicutes* que partilha a capacidade de produção de butirato. Em concordância com as restantes espécies deste filo, esta encontra-se igualmente suprimida em indivíduos com DII.<sup>26</sup> Uma das particularidades mais importantes a notar nestas bactérias é o facto de a sua diminuição ser concomitantemente observada em indivíduos saudáveis com um risco genético aumentado para DII, o que fortalece a evidência de intervenção deste microorganismo na fisiopatologia da CU e DC.<sup>23,39</sup>

A par do filo *Firmicutes*, os *Bacteroides* assumem-se um género preponderante na flora bacteriana intestinal saudável pelo que a investigação do seu comportamento na DII revela-se

impreterível. Os *Bacteroides* são responsáveis pela indução de funções anti-inflamatórias do sistema imunitário através da produção de polissacarídeos A que potenciam o crescimento e expressão das células T reguladoras e citocinas.<sup>39,40</sup> Mais se acrescenta que alguns dos *Bacteroides* estão envolvidos em processos de competição interespecífica e produção de substâncias deletérias para espécies patogénicas, contribuindo, desta forma, para a diminuição das mesmas.<sup>39</sup> Assim, é expectável que este género de bactérias se possa encontrar deprimido na patologia inflamatória do intestino. Esta suposição é apoiada pela análise de Zhou et al. que reconhece *Bacteroides* como um grupo diminuído na DII, o que se revela particularmente notório em estudos que recorrem a técnicas de amplificação de ácidos nucleicos para a deteção bacteriana.<sup>40</sup> De facto, para além da sua redução significativa na CU e DC, estas alterações são passíveis de se observar quer na fase ativa quer na remissão das patologias.<sup>33</sup> Em oposição, no estudo de Wang et al. foi observada um aumento dos *Bacteroides* na DII face aos indivíduos saudáveis embora os resultados não se tenham revelado estatisticamente significativos.<sup>34</sup> Esta observação deve no entanto alertar para o facto de determinadas espécies de *Bacteroides* como o *B. fragilis* apresentarem fatores pró-inflamatórios com promoção da permeabilidade da mucosa intestinal, pelo que este grupo de bactérias não é exclusivamente protetor da DII.<sup>39</sup>

Os *Bifidobacterium* são reconhecidos como um dos mais importantes probióticos na atualidade pelo que a pesquisa da sua intervenção na CU e DC se assume inevitável. Dados os benefícios comprovados das bactérias constituintes deste género na saúde intestinal, é verosímil o decréscimo destes microorganismos na DII, sendo diversos os estudos que o afirmam. A meta-análise de Prosberg et al. que inclui a análise de 7 diferentes ensaios clínicos corroborou a redução de *Bifidobacterium* na constituição da flora intestinal destes doentes, particularmente notória em fases de maior atividade de ambas as patologias.<sup>35</sup> Este assume-se, no entanto, um tópico controverso na medida em que foi já documentada uma tendência crescente destas bactérias em indivíduos com DII ativa, sobretudo verificada nas amostras intestinais biopsadas.<sup>26,34</sup>

No que se refere às bactérias que se encontram aumentadas na constituição da microbiota intestinal dos pacientes com DII, destacam-se as inerentes ao filo *Proteobacteria* com particular realce para a *Escherichia coli* aderente-invasiva. Como o próprio nome indica, trata-se de uma estirpe de *E. coli* com potencial para aderir e invadir as células epiteliais intestinais bem como para se replicar dentro de macrófagos e estimular a produção de fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), conferindo-lhes assim uma maior patogenicidade.<sup>41</sup> Embora seja uma bactéria amplamente associada à fisiopatologia da DII, os estudos relativos ao seu papel na CU e DC são ainda muito discordantes. Efetivamente são encontrados autores que afirmam a elevação da *E.*

*coli* nas fezes e amostras de biópsias intestinais quer em indivíduos com DC quer em indivíduos com CU, chegando Wang et al. a constatar um aumento mais exuberante desta bactéria nos casos de CU.<sup>34</sup> Em oposição, outros estudos assumem um envolvimento exclusivo da *E. coli* na DC, com especial intervenção na mucosa ileal. A pesquisa realizada neste sentido por Serrano-Gómez et al. que procurou definir o perfil microbiológico de fezes de 2 coortes europeias com DII, reforça esta hipótese na medida em que verificou a presença desta bactéria essencialmente nos pacientes com DC.<sup>36</sup> Assim, será necessária uma investigação mais aprofundada para compreender o papel da *E. coli* em cada uma das patologias e se poderá vir a ser potencialmente um marcador de diferenciação entre ambas. Neste sentido, deve notar-se que os estudos realizados com base em biópsias de mucosa intestinal face aos que se fundamentam em amostras fecais, embora menos acessíveis, são mais representativos nestes casos dadas as propriedades de adesão e invasão epitelial destas bactérias.<sup>41</sup> Complementarmente, na análise realizada por Prosberg et al. não se verificam diferenças significativas na presença desta estirpe quando comparados os pacientes com patologia ativa com os pacientes em remissão, pelo que não se pode afirmar uma relação entre este patógeno e a atividade da doença.<sup>35</sup>

À semelhança da *E. coli*, *Fusobacterium* é um género de bactérias com capacidade invasiva/aderente que intervém na patogénese das patologias inflamatórias do intestino.<sup>26,33</sup> A *Fusobacterium varium* assume-se uma espécie deste grupo representativa deste papel na medida em que as áreas inflamadas de doentes com CU se encontram enriquecidas com esta bactéria. Adicionalmente, a eficácia da instituição de antibioterapia que tem ação sobre este patógeno no tratamento da CU ativa revela-se um fator sugestivo da associação do mesmo à fisiopatologia da doença.<sup>24</sup> Com base no estudo de biópsias de tecido de pacientes com DII ativa face a biópsias de tecido saudável foi possível observar uma maior competência invasora da estirpe *Fusobacterium nucleatum* no primeiro grupo.<sup>33</sup> Desta forma, deve atentar-se à possível associação entre a atividade destes patógeno e a atividade da patologia.

A *Veillonella* trata-se de um género de bactérias que se tem afirmado progressivamente como um microorganismo favorecedor do desenvolvimento de DII. A literatura existente neste contexto aponta para uma elevação significativa evidente deste género na DC, da qual se destaca a espécie *Veillonella parvula*, não existindo, até ao momento, acordo acerca do papel da mesma na CU.<sup>36</sup> Com efeito, autores que afirmam o aumento da *Veillonella* na microbiota intestinal de pacientes com CU opõem-se a outros estudos que não demonstram diferenças significativas no que concerne à presença deste género entre indivíduos saudáveis ou com a patologia.<sup>42</sup>

O *Ruminococcus gnavus* apesar de constituinte da microbiota intestinal saudável revela-se mais notório na microbiota dos pacientes com DII, na qual apresenta uma maior contribuição.<sup>39</sup> Num estudo realizado por Clooney AG, et al. esta estirpe destacou-se mesmo como a mais elevada nas amostras de doentes com DC quando comparadas com as amostras controlo.<sup>43</sup> Paralelamente, Serrano-Gómez et al., à semelhança de outros autores, demonstram diferenças significativas na prevalência de *R. gnavus* nas duas patologias inflamatórias intestinais, sugerindo um papel mais proeminente destas bactérias na DC em oposição à CU.<sup>36</sup> A espécie em questão apresenta características fenotípicas que se assumem relevantes para a fisiopatologia da DII, das quais se destaca a sua aptidão para potenciar a secreção de TNF- $\alpha$ , uma citocina fundamental no desenvolvimento e manutenção da patologia.<sup>39</sup> Complementarmente, esta espécie tem propriedades de decomposição da mucina da barreira epitelial, que utiliza como fonte de energia e que fornece às restantes bactérias na forma de nutrientes, potenciando o seu crescimento neste ambiente.<sup>24</sup>

Assim, constata-se que a disbiose intestinal é um fator substancial na fisiopatologia da CU e DC com destaque para a redução da biodiversidade e estabilidade temporal da composição da flora, essencialmente resultantes da menor contribuição das bactérias do filo *Firmicutes* e do maior reforço do filo *Proteobacteria* na constituição da microbiota destes pacientes [Figura 10].<sup>20,23-25</sup> Desta forma, assiste-se a um aumento das bactérias com potencial inflamatório face às bactérias anti-inflamatórias na DII.<sup>23</sup>

Ainda assim subsistem aspetos significativos a considerar para a garantia da relevância destas conclusões.

A generalidade dos ensaios realizados neste âmbito foca-se na deteção do genoma da microbiota quer em amostras de fezes quer em biópsias intestinais tal como é notado nos estudos até aqui descritos. No entanto, a abundância das diferentes espécies encontradas na microbiota nem sempre é compatível com o grau funcional das mesmas. Esta divergência entre quantidade e função da microbiota pode induzir falsas conclusões dado que as alterações taxonómicas podem não se traduzir em perda de função e vice-versa. Desta forma, para além das investigações metagenómicas nesta entidade, é fundamental apostar em estudos metatranscriptómicos que reflitam o nível de expressão transcricional de cada uma das espécies para que o seu papel na fisiopatologia da DC e CU seja integralmente compreendido.<sup>26,44,45</sup>

Adicionalmente, dados fatores éticos, de acessibilidade e de execução, as técnicas de análise da microbiota em amostras fecais são as preferidas em grande parte dos estudos existentes. Em contrapartida, a população microbiana nas fezes e na mucosa intestinal não são

perfeitamente coincidentes, sendo que esta última se afirma mais relevante na DII. Assim, apesar das limitações existentes, a realização de análises em amostras biopsadas em maior escala é necessária para o esclarecimento e validação das evidências até aqui discutidas.<sup>45</sup>

## 2. Microbiota intestinal como biomarcador da Doença Inflamatória Intestinal

Atendendo à similitude da CU e da DC, o diagnóstico de cada uma destas patologias pode constituir, ainda na atualidade, um desafio clínico, diferindo o início da gestão terapêutica das mesmas. As particularidades da microbiota intestinal objetivadas nas duas doenças têm-se destacado como um fator discriminatório entre as mesmas. O conhecimento cada vez mais aprofundado destas alterações incentiva progressivamente a sua utilização para a criação de potenciais biomarcadores com base na microbiota intestinal para a deteção precoce da doença. Estes perfis microbianos podem concomitantemente ser um fator chave na estratificação da gravidade destas patologias bem como na orientação do seu tratamento e prognóstico.<sup>26,27,46</sup>

### 2.1. Marcador para diagnóstico de Doença Inflamatória Intestinal e distinção das patologias

Com o intuito de determinar possíveis biomarcadores diagnósticos, Zhou et al. procuraram conhecer a constituição da microbiota intestinal de uma coorte chinesa composta por pacientes com DC, CU e indivíduos saudáveis. Neste ensaio foram observadas alterações concordantes com as previamente documentadas com enriquecimento de *Proteobacteria* e um empobrecimento significativo de *Firmicutes*, destacando-se os géneros *Roseburia* e *Coprococcus*. As amostras deste estudo foram posteriormente utilizadas na construção de modelos de classificação das patologias que determinaram uma precisão de 89,5% para distinguir as amostras de CD das amostras dos controlos saudáveis e de 93,2% no que concerne às amostras representativas de CU. O modelo construído foi adicionalmente testado na coorte dos estudos RISK e PRISM constituída por indivíduos ocidentais, tendo-se verificado apenas uma ligeira redução da precisão de diagnóstico com valores de 87,5% de precisão de deteção da DC e 79,1% nos casos de CU nas amostras do PRISM. Estes valores são sugestivos de uma forte possibilidade da microbiota intestinal constituir o marcador diagnóstico de DII com maior potencial na atualidade. Mais se acrescenta que o facto de o modelo ser aplicado com relativo sucesso em populações geograficamente diferentes, sugere que estes biomarcadores poderão ser válidos independentemente de fatores genéticos e ambientais. Por outro lado, verificou-se um maior êxito na aplicação deste modelo em amostras de biópsia face a amostras fecais, o que pode ser entendido como uma limitação do projeto em análise.<sup>47</sup>

Uma das maiores coortes de estudo da microbiota intestinal da DII inclui sequências genéticas da flora microbiana de amostras fecais de 4 países europeus. A sua análise confirmou que a DC e a CU podem ser individualizadas atendendo à microbiota a que estão associadas. Neste sentido, Pascal V, et al. avançaram com um algoritmo pioneiro com o objetivo de identificar

marcadores microbiológicos capazes de discernir o diagnóstico de DC de indivíduos sem a doença. Para este efeito, foram utilizadas as 8 estirpes com maior potencial caracterizador de cada patologia [Figura 11], das quais se ressalva a *Collinsella* que permitiu a diferenciação da CU face à DC pela sua incidência praticamente exclusiva na primeira patologia. A aplicação deste algoritmo revelou-se bem-sucedida, verificando-se que o mesmo apresenta uma sensibilidade para o diagnóstico de DC de 85,1% e 82,4% face a pacientes saudáveis e com CU, respetivamente. A validação do algoritmo foi realizada através da sua implementação numa outra coorte de pacientes diagnosticados com DC, tendo sido detetadas com precisão 81,8% das amostras através deste método baseado na microbiota. O facto de a amostra global em estudo incluir indivíduos com vários estádios da doença, isto é, com diagnóstico recente, em remissão e com doença ativa, permite inferir que o biomarcador diagnóstico proposto é aplicável independentemente da atividade da patologia. Adicionalmente foi testada a especificidade do algoritmo como biomarcador da DC ao aplicar o mesmo em coortes de pacientes diagnosticados com CU e com Síndrome de Intestino Irritável, dois dos principais diagnósticos diferenciais da patologia. Os resultados demonstraram uma especificidade de 95,1% e 94,4% respetivamente, valores estes que acrescem à utilidade clínica deste potencial marcador diagnóstico.<sup>46</sup>

No seguimento destas evidências, foi elaborado o programa *LightCUD* que constitui a primeira ferramenta diagnóstica da DII baseada na microbiota intestinal. Com fundamento em amostras fecais, este sistema determina a probabilidade de uma determinada amostra em estudo pertencer a um indivíduo com DII e, posteriormente, progride com a sua categorização em CU ou DC. Elucidando, o programa inclui 2 modelos que confrontam a DII face à não doença e 2 outros que contrapõem a CU à DC, com recurso a amostras obtidas por sequenciação direcionada através do RNA ribossomal 16S (16S rRNA) e por sequenciação completa do genoma (WGS). Para este efeito, os algoritmos elaborados incluíram 252 géneros bacterianos para a deteção de DII e 91 géneros para a distinção entre as duas patologias aplicando o método 16S rRNA e 49 e 12 estirpes, respetivamente, utilizando o método WGS.<sup>48</sup>

Das estirpes utilizadas na construção dos modelos são exemplo a *Enterobacter cloacae*, *Mycobacterium ulcerans*, *Burkholderia gladioli* e a *Ehrlichia canis* que se demonstraram pertinentes na diferenciação entre amostras saudáveis e amostras patológicas e a *Nocardiopsis dassonvillei* que se destacou, particularmente, pela sua capacidade de determinar os indivíduos com CU dada a sua escassez na microbiota dos pacientes com DC. Curiosamente, as estirpes que se demonstram mais discriminadoras no desenvolvimento desta ferramenta não coincidem com as estirpes identificadas como as que quantitativamente mais se destacam nos estudos da microbiota das duas patologias. Assim, estes resultados suscitam a hipótese de o estudo das

espécies dominantes na flora intestinal da DII poder não se assumir necessariamente o mais vantajoso à criação de biomarcadores de diagnóstico.<sup>48</sup>

No que concerne à eficácia deste método de diagnóstico, os 4 modelos previamente referidos afirmaram-se significativamente precisos no seu objetivo de deteção de DII e discernimento da CU e DC, desempenho este que foi aferido pela *area under the receiver operating characteristic curve* (AUC) e precisão média (PM) associada a validação cruzada 5-fold [Tabela VII]. Com a aplicação de *default thresholds*, o programa constatou uma precisão média de 88,5% na distinção dos pacientes com DII dos indivíduos saudáveis e 93,1% na diferenciação da DC e CU com recurso ao 16S rRNA. Estes valores revelaram-se ainda mais satisfatórios quando aplicado os modelos que utilizam o WGS, com resultados de 92,3% e 93,3%, respetivamente. Quando extrapolado para outras amostras, incluindo de outras regiões geográficas, o *LightCUD* manteve a sua precisão diagnóstica conservada, o que se traduz numa amplificação da qualidade diagnóstica deste método.<sup>48</sup>

Este modelo destaca-se, em acréscimo, pela sua adaptabilidade a dois dos métodos mais utilizados para o estudo do microbioma, a sequenciação direcionada através do RNA ribossomal 16S e sequenciação completa do genoma. Este método apresenta, assim, vantagem competitiva em relação a outros modelos na medida em que permite a sua utilização independentemente do método utilizado para aceder ao microbioma das amostras em estudo.<sup>48</sup> Não obstante, deve ser considerada a necessidade do aperfeiçoamento e escolha de um método *standard* para o estudo da microbiota intestinal que evite estas possíveis limitações de futuros meios complementares de diagnóstico.<sup>46</sup>

Os estudos apresentados são exemplos bem-sucedidos de potenciais bases para a criação de novos marcadores diagnósticos para a DII que apresentam como vantagens o seu potencial orientador de diagnóstico, a sua inocuidade e custo-efetividade. Efetivamente, estes biomarcadores podem demonstrar-se particularmente importantes na primeira fase da escalada diagnóstica em indivíduos com clínica inflamatória intestinal inespecífica bem como em associação com outros marcadores laboratoriais e imagiológicos para validação diagnóstica.<sup>46,48</sup> Finalmente, a identificação das estirpes mais valiosas no desenvolvimento destes marcadores poderá contribuir na deteção das espécies que devem ser foco na investigação de estratégias terapêuticas inovadoras.<sup>48</sup>

Desta forma, embora se esteja a comprovar cada vez mais evidente a utilidade clínica de modelos diagnósticos baseados na microbiota intestinal para a DII, os até então testados com sucesso não apresentam uma população de estudo suficiente para serem avançados para a rotina

diagnóstica. Sendo assim, é necessário que estes mesmos métodos, ou outros desenvolvidos, sejam submetidos a testes que comprovem a sua sensibilidade e especificidade de uma forma universal e não condicionado a uma população particular, livres de viés, tal como tem vindo a ser mostrado possível nos estudos avançados.<sup>46,48</sup>

Note-se que, na elaboração de potenciais marcadores diagnósticos devem ser preferíveis os marcadores fecais face aos serológicos, dada a correspondência mais direta dos primeiros às variações do ambiente intestinal, à qual acresce o facto de se assumirem indubitavelmente menos invasivos.<sup>46,48</sup>

## 2.2. Marcador preditor de atividade da doença

Considerando que a progressão da DII constitui um desafio clínico dada a imprevisibilidade da atividade da patologia, o desenvolvimento de marcadores preditores de recidiva são uma necessidade atual para a otimização das estratégias de seguimento e planos terapêuticos da mesma.<sup>47</sup> Neste sentido, a microbiota intestinal como interveniente na fisiopatologia da doença, surge como uma área de investigação promissora neste âmbito.

Zhou et al. constataram a correlação entre as alterações microbianas intestinais e as fases da história natural da CU e DC. Com efeito, a severidade da DC encontra-se associada a um aumento de *Proteobacteria* e *Enterococcaceae* e a um decréscimo de *Ruminococcaceae* e *Clostridiales*. Analogamente, *Proteobacteria* e *Bacilli* demonstram-se dominantes nos casos mais graves de CU, sendo os *Clostridiales* uma ordem que se destaca pela sua depleção generalizada a todos os pacientes em fase ativa.<sup>47</sup> Para ambas as patologias, verificam-se alterações que acompanham a gravidade da doença [Tabela VIII]. Note-se que, Zhou et al. encontraram uma associação entre a composição da microbiota intestinal e o comportamento da DC, com uma forte ligação da prevalência de *Enterobacteriaceae* aos fenótipos mais complicados [Tabela IX]. Estas evidências sugerem que a microbiota intestinal pode, assim, assumir-se um meio para a avaliação e deteção antecipada da progressão da patologia no sentido de atuar de forma precoce e adequada.<sup>47</sup>

Dos biomarcadores elaborados como preditores da atividade da DC na esfera da microbiota intestinal destaca-se o “*Microbial predictive score for mucosal healing*” (MPS-MH) que foi desenvolvido com base nas variações da microbiota intestinal em relação aos achados endoscópicos (“Presença de Úlceras” vs “Cicatrização da Mucosa”) avaliados na totalidade do intestino delgado.<sup>49</sup> O estudo destas duas variáveis permitiu aferir que a microbiota de pacientes em fase quiescente é significativamente mais enriquecida em 6 géneros bacterianos,

*Faecalibacterium*, *Lachnospira*, *Paraprevotella*, *Dialister*, *Streptococcus* e *Clostridium*<sup>49</sup>, o que se encontra em concordância com os resultados de Zhou et al. Estes 6 géneros correspondem às 6 variáveis do score em questão, sendo atribuído 1 ponto por cada género que se encontre numa quantidade superior ao *cut-off* estabelecido para o mesmo, na microbiota em avaliação. Assim, um indivíduo que contabilize um score de 5 ou mais pontos terá uma maior probabilidade de cicatrização da mucosa intestinal, apresentando este método uma sensibilidade e especificidade de 63,4% e 91,7%, respetivamente.<sup>49</sup> O presente estudo demonstrou adicionalmente que pacientes com MPS-MH > 5 apresentam uma taxa cumulativa de recidivas significativamente menor, o que confere um valor prognóstico a este método.<sup>49</sup>

Na CU, o desenvolvimento de modelos preditores da atividade da patologia encontra-se mais atrasado, sendo praticamente nulos os potenciais biomarcadores desenhados com este propósito. O estudo que se pode destacar neste âmbito é o de Fukuda et al. no qual foi analisada a microbiota intestinal de 149 indivíduos, devidamente estratificados quanto à presença de CU e à sua gravidade nos seguintes grupos: Grupo I - CU ativa; Grupo IIa - CU quiescente com inflamação intestinal ligeira; Grupo IIb - CU quiescente; Grupo III - Familiares consanguíneos saudáveis; Grupo IV - Familiares não consanguíneos saudáveis. A realização de uma análise discriminante destes mesmos grupos, com base nas suas unidades taxonómicas operacionais, culminou na criação de um score discriminante que demonstrou apresentar correspondência com a atividade da CU. De facto, valores mais elevados do score mostraram estar relacionados a uma maior gravidade da patologia, provando que existe uma associação entre a composição da microbiota e a gravidade da doença. Todavia, o modelo matemático sugerido neste estudo apenas permite associar o valor do score discriminante à atividade da CU, não possibilitando identificar quais as estirpes relacionadas com a mesma.<sup>50</sup> Assim, revela-se essencial um maior investimento na investigação e testagem de eventuais biomarcadores que determinem a utilidade da microbiota intestinal na previsão das fases ativa e quiescente da CU.

Através da literatura analisada, entende-se que as alterações da flora intestinal inerentes aos indivíduos com DII não são estanques, antes variáveis de acordo com a evolução natural da patologia, permitindo inferir a progressão da mesma. Consequentemente, surgem como principais benefícios da criação de biomarcadores neste domínio, o facto de permitirem prever com maior acuidade a periodicidade necessária para a realização de exames endoscópicos de seguimento, evitando o submeter o paciente a exames invasivos excessivos, bem como efetuar uma escolha mais informada entre a abordagem “Step-up” ou “Top-down” como estratégia terapêutica.<sup>47,49</sup> Assim, à semelhança dos marcadores de diagnóstico, é pertinente que continue a

crescer a construção de métodos apoiados na microbiota intestinal com vista à sua integração na orientação clínica.

### 2.3. Marcador preditor de resposta terapêutica

Apesar dos contínuos estudos na área, o tratamento da DII não apresenta ainda uma eficácia transversal ao espectro de todos os pacientes. Das diferentes terapêuticas existentes, os fármacos biológicos anti-TNF $\alpha$  revelam-se os mais poderosos, sendo o Infliximab um dos exemplos mais utilizados na prática clínica. Ainda assim, em concordância com a informação supradescrita, cerca de 40% dos pacientes diagnosticados com DC e 50% com CU não obtêm resultados satisfatórios com este fármaco. Mais se acrescenta que, mais de um terço dos pacientes, que apresentam resposta inicial para o mesmo, veem mitigados os seus efeitos terapêuticos com a progressiva utilização.<sup>51</sup> Estas evidências em conjunto com a toxicidade associada ao fármaco determinam a necessidade de criação de fatores preditores de resposta que possam diminuir o total de pacientes submetidos aos efeitos secundários do Infliximab que previsivelmente não beneficiarão dos efeitos terapêuticos do mesmo.<sup>51,52</sup>

Ventin-Holmberg et al. estudaram o potencial da microbiota intestinal como biomarcador preditor de resposta ao Infliximab e constataram diferenças significativas na constituição da flora intestinal, antes do início da terapêutica, entre os indivíduos que obtiveram resultados terapêuticos satisfatórios face aos que não responderam ao tratamento [Tabela X]. De uma forma global, constatou-se que a ausência de resposta ao Infliximab se faz acompanhar de uma menor diversidade da microbiota intestinal bem como de uma menor estabilidade temporal da sua composição. A identificação dos géneros bacterianos significativamente mais característicos de cada grupo culminou na criação de um modelo preditivo de resposta terapêutica ao Infliximab, previamente à instituição do tratamento, com valores AUC de 0,797 para os pacientes com DII na generalidade e 0,933 e 0,818 em pacientes com DC e CU, respetivamente, quando aplicados os modelos específicos de cada uma destas patologias. Assim, Ventin-Holmberg et al. demonstraram que os elementos constituintes da microbiota intestinal poderão ser a resposta para a criação de um eficaz biomarcador preditivo de resposta ao Infliximab, com destaque para a diminuição dos *Clostridiales* e o aumento de *Candida* como fatores com elevado valor preditivo de insucesso terapêutico.<sup>51</sup> O trabalho realizado por Zhuang et al. neste mesmo âmbito, realizado exclusivamente em pacientes com DC, corrobora a relação entre a abundância de *Clostridiales* e a resposta ao Infliximab, afirmando que o aumento combinado dos táxons *Lachnospiraceae* e *Blautia* à 6ª semana de utilização do fármaco apresentava uma exatidão de 89,1% em prever a

resposta endoscópica ao tratamento à 30ª semana.<sup>52</sup> Adicionalmente, também a investigação de Zhou et al. tinha previamente demonstrado que a resposta eficaz ao Infliximab era precedida pela presença de uma maior diversidade da microbiota intestinal destes indivíduos, confirmando o potencial das espécies da ordem *Clostridiales* como preditores do sucesso terapêutico do fármaco.<sup>47</sup>

Os agentes que se encontravam em menor proporção e se revelaram em direta associação com a falta de resposta farmacológica nos estudos são na generalidade produtores de ácidos-gordos de cadeia curta, o que propõe que a resposta aos anti-TNF $\alpha$  esteja de algum modo dependente da influência dos AGCC a nível intestinal.<sup>51,52</sup>

### 3. Microbiota intestinal como alvo terapêutico da Doença Inflamatória Intestinal

O tratamento da DII é uma área que permanece em constante evolução, o que é impulsionado pela heterogeneidade de resposta às complexas abordagens terapêuticas existentes que se traduz numa taxa de insucesso terapêutico considerável bem como pelo elevado custo das mais recentes e poderosas terapêuticas em utilização. A constatação, cada vez mais evidente, do papel ativo da microbiota intestinal na contribuição e perpetuação da inflamação na CU e DC, orienta notoriamente para a crescente investigação da manipulação deste fator etiológico como eventual ferramenta terapêutica.

#### 3.1. Transplante de microbiota fecal na Colite Ulcerosa e Doença de Crohn

O transplante de microbiota fecal (TMF) corresponde a uma estratégia terapêutica que consiste na transferência de fezes de um dador saudável para o indivíduo em tratamento com o intuito de que os microorganismos presentes nas fezes do dador restaurem o equilíbrio da microbiota intestinal disbiótica. Esta estratégia é reconhecida pelo seu sucesso no tratamento da infeção por *Clostridium difficile*, apresentando teoricamente um elevado potencial de aplicabilidade na DII.<sup>25,53,54</sup>

O ensaio clínico randomizado FOCUS procurou determinar a eficácia do TMF, com origem em vários dadores, na população com CU ativa. Uma amostra de 41 pacientes foi submetida a esta terapêutica 5 vezes por semana durante um total de 8 semanas, em simultâneo com uma amostra de 40 pacientes submetidos a um enema placebo com o mesmo regime de administração. Os resultados obtidos foram significativamente satisfatórios, ressaltando-se que 27% dos pacientes a receber tratamento com TMF alcançaram remissão clínica e endoscópica sem recurso a corticoides à 8ª semana face a 8% dos pacientes sob regime placebo [Tabela XI]. Efetivamente, assistiu-se a uma amplificação significativa da diversidade da microbiota dos pacientes submetidos ao transplante ao longo das semanas quando comparada com a sua constituição inicial, que perdurou após cessação da terapêutica [Figura 12]. Em contrapartida, este aumento de diversidade verificou-se em todos os indivíduos tratados com o TMF independentemente do resultado à 8ª semana, revelando-se a única distinção entre os 2 grupos de resposta terapêutica a diversidade microbiana à priori [Figura 13]. Apesar dos indícios benéficos objetivados, o ensaio em causa apresenta diversas limitações das quais se destacam a ausência de determinação da duração e intensidade ideal do tratamento bem como a sua segurança a longo prazo, que é ameaçada pela utilização de TMF de multi-dadores.<sup>53</sup>

A superioridade do TMF face a um placebo na remissão clínica da CU foi posteriormente revalidada ( $p < 0,001$ ) por uma meta-análise inclusiva de 4 ensaios clínicos randomizados com pacientes com CU de gravidade leve a moderada. A segurança desta alternativa terapêutica foi também considerada neste estudo que demonstrou que os eventos adversos graves, patentes nos grupos submetidos ao TMF, não eram estatisticamente significativos. Concomitantemente, o aumento de efeitos secundários na generalidade com a utilização desta estratégia terapêutica também não se demonstrou significativa na sua comparação com os grupos de controlo ( $p = 0,73$ ).<sup>54</sup>

Os estudos até então realizados neste âmbito têm sido exclusivamente destinados a pacientes com CU cuja gravidade é leve a moderada, não existindo evidências do efeito do TMF em doentes mais graves. Efetivamente, é especulado que um dos preditores para o êxito desta abordagem de tratamento seja a gravidade da inflamação antes de iniciar o curso de terapia dado que os pacientes com endoscopias que demonstravam achados mais graves apresentam aparentemente uma menor taxa de sucesso.<sup>53</sup>

Assim, apesar das evidências promissoras do TMF na CU, é necessário esclarecer através da realização de mais ensaios clínicos randomizados a indicação expressa para o TMF, a estratégia ideal de administração e a escolha de dadores, fatores estes que ainda distanciam a introdução deste novo paradigma de tratamento na prática clínica.<sup>54</sup> Deve notar-se apenas que, relativamente ao esquema de administração, a literatura sugere que a DII exigirá um esquema mais intensivo do que a infeção por *Clostridium difficile* dada a maior complexidade da disbiose associada à primeira patologia.<sup>53,54</sup>

No que concerne à aplicabilidade do TMF na DC, os dados existentes são notoriamente mais escassos que na CU, apresentando esta entidade uma menor previsibilidade de resposta favorável à terapêutica em questão dada a extensão transmural da mesma.<sup>25,55</sup> O primeiro ensaio clínico randomizado realizado neste âmbito procurou estudar a eficácia do TMF na manutenção da remissão na DC e, apesar de detetar uma incidência de recidiva menor no grupo tratado com TMF face ao grupo controlo, esta comparação não se revelou estatisticamente significativa, o que poderá ser justificado pelo número reduzido da amostra em estudo.<sup>55</sup>

Desta forma, embora as expectativas para inclusão do TMF nas hipóteses de tratamento da DII sejam otimistas, esta permanece uma abordagem em necessidade de investigação em futuros ensaios clínicos.<sup>25</sup>

### 3.2. Pré e probióticos na Colite Ulcerosa e Doença de Crohn

Duas outras alternativas terapêuticas em ascensão dirigidas à manipulação da microbiota intestinal são os pré e probióticos. Os probióticos consistem em diferentes combinações de microorganismos vivos, habitualmente constituintes da flora intestinal saudável, que quando administrados, têm como objetivo, através das suas próprias funções ou por competição com os patogêneos presentes no intestino, reestabelecer a homeostasia intestinal. Assim, este tratamento na DII permitiria corrigir as alterações taxonômicas descritas e, conseqüentemente, colmatar os efeitos da disbiose, parcialmente responsável pelo desenvolvimento e manutenção da patologia. O próprio ambiente intestinal, por sua vez, exerce também poder sobre a composição e função da microbiota, razão pela qual os prebióticos se qualificam como uma opção terapêutica em investigação para a DII. Estes consistem num conjunto de substratos, nomeadamente, oligo e poligossacarídeos não digeríveis, que estimulam seletivamente o aumento e as vias de atividade das estirpes benéficas à saúde dos indivíduos.<sup>25</sup>

No âmbito dos probióticos, deve notar-se particular atenção à *E. coli Nissle 1917* (EcN) que corresponde a uma bactéria, que embora pertencente ao filo *Proteobacteria* frequentemente associado ao desenvolvimento da DII, não apresenta propriedades patogénicas. Em oposição, esta estirpe revela-se protetora e reparadora da mucosa intestinal bem como promotora do sistema imunológico.<sup>39,56</sup> O início da investigação da utilidade deste probiótico na CU já data algumas décadas, existindo ensaios clínicos que equiparam os efeitos da EcN na manutenção de remissão da patologia à mesalazina, que corresponde ao tratamento convencional. No sentido de corroborar estas evidências, foi realizado um ensaio clínico randomizado, inclusivo de 10 países europeus, com 327 pacientes e uma duração de 12 meses. Os casos de recidiva foram determinados através de índices de atividade endoscópicos e histológicos estabelecidos com exatidão. No presente estudo verificou-se uma percentagem de 36,4% de recidiva nos pacientes tratados com EcN face a 33,9% nos pacientes tratados com mesalazina, provando-se a inexistência de diferenças significativas entre os grupos [Figura 14]. Desta forma, confirma-se que a eficácia da terapêutica com o probióticos EcN na manutenção da remissão da CU é equiparada à terapêutica gold-standard atualmente instituída. O ensaio permitiu adicionalmente aferir que existe na globalidade uma boa tolerância e segurança com a utilização do probiótico.<sup>56</sup>

VSL#3 é uma outra preparação probiótica de destaque no âmbito da CU que consiste na combinação concentrada de 8 espécies bacterianas: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis* e *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*.<sup>54</sup>

Num ensaio clínico randomizado com 147 pacientes com CU leve a moderada, na qual foi avaliado o potencial de tratamento de VSL#3 na patologia ativa, foram administradas  $3,6 \times 10^{12}$  UFC desta terapêutica 2 vezes por dia durante um período de 12 semanas, concomitantemente a um grupo de controlo submetido a um placebo. Quando avaliado o score de Índice de Atividade de Doença de Colite Ulcerosa (UCDAI) às 6 semanas de estudo, detetou-se um número significativamente maior de pacientes tratados com VSL#3 (32,5%) que apresentaram uma diminuição de pelo menos 50% do score em oposição ao grupo controlo (10%) ( $p=0,001$ ). Simultaneamente, assistiu-se a uma melhoria clínica dos sintomas mais expressiva no grupo testado [Figura 15] bem como a uma cicatrização da mucosa significativamente superior nos pacientes tratados com a preparação probiótica (32% vs 14,7%).<sup>57</sup> A meta-análise de Dang et al. corroborou estas evidências, reafirmando o poder de VSL#3 na resposta clínica da CU ativa.<sup>54</sup>

A relevância do VSL#3 intensifica-se quando se atenta às suas propriedades irrefutavelmente benéficas na gestão das bursites, a complicação mais comum após a realização de anastomose ileo-anal na CU. Efetivamente, este composto probiótico tem-se afirmado competente na manutenção da remissão dos casos de bursite recorrente ou refratária em diversos ensaios clínicos randomizados.<sup>17,25</sup> Um destes ensaios, executado com o propósito de confirmar as evidências anteriormente obtidas, estudou uma amostra de 36 pacientes com história de bursite recorrente ou refratária quanto à utilização de 6g de VSL#3 como terapêutica diária para manutenção da remissão da bursite durante pelo menos 1 ano. Os resultados revelaram uma diferença significativa ( $p<0,0001$ ) no que concerne à manutenção da remissão nos dois grupos de estudo, com uma percentagem de 85% nos pacientes tratados com probiótico e de 6% nos pacientes com placebo, verificando-se adicionalmente uma melhoria na qualidade de vida com este tratamento.<sup>58</sup>

O VSL#3 apresenta, em associação, efeitos profiláticos na bursite aguda e crónica, confirmados no ensaio clínico de Gionchetti et al. no qual se assistiu ao desenvolvimento de bursite aguda em 40% dos pacientes controlo em oposição a 10% dos pacientes tratados com VSL#3 após serem submetidos a uma anastomose ileo-anal [Figura 16].<sup>59</sup>

Um ensaio clínico aberto apontou também para a eficácia do VSL#3 no tratamento da bursite ativa, podendo este probiótico constituir uma alternativa à administração de antibióticos nos casos ligeiros.<sup>60</sup>

No que diz respeito aos prebióticos, os estudos neste âmbito são ainda raros pelo que não é possível obter conclusões detalhadas. A maioria dos estudos existentes englobam a associação de pré e probióticos não permitindo determinar o efeito isolado dos primeiros. Ainda assim, a

investigação aponta para que a utilização de simbióticos que incluam a inulina e a oligofrutose possa estar associada a efeitos anti-inflamatórios potencialmente benéficos.<sup>61</sup>

À semelhança do TMF, a manipulação da microbiota intestinal com recurso a prebióticos e probióticos não apresenta dados significativamente vantajosos da introdução desta abordagem terapêutica na esfera da DC.<sup>25</sup>

Atendendo às evidências constatadas, a utilização de probióticos reserva já um lugar na prática clínica da gestão da CU, estando preconizada nas Guidelines da European Crohn's and Colitis Organisation a utilização do VSL#3 na manutenção da remissão e profilaxia da bursite na CU. A referência ao papel eficaz da EcN na manutenção da remissão da CU está também patente nestas Guidelines, embora ainda sem recomendações para a sua aplicação em contexto prático.<sup>17,62</sup>

### **3.3. Dieta na Colite Ulcerosa e Doença de Crohn**

A nutrição detém indubitavelmente uma posição ativamente interveniente e influenciadora na gestão terapêutica da DII. Por outro ponto de vista, a dieta a que cada indivíduo se submete está intimamente ligada com a expressão e composição da microbiota intestinal. Assim sendo, os planos dietéticos podem ser vistos como um meio de manipulação da flora intestinal no sentido de beneficiar os pacientes com CU e DC.<sup>63</sup> A dieta mediterrânica tem surgido, neste sentido, como uma orientação nutricional vantajosa em diversas patologias, incluindo a DII. Numa meta-análise realizada por Illescas et al. objetivou-se que a microbiota intestinal associada à dieta mediterrânica era particularmente enriquecida com estirpes dotadas de propriedades anti-inflamatórias e mais desprovida de filos associados à CU e DC, estando patente diferenças praticamente opostas na constituição da microbiota dos pacientes com DII e dos indivíduos sob a dieta mediterrânica.<sup>64</sup> Efetivamente, este tipo de dieta tem-se associado à diminuição dos níveis de *Escherichia coli* bem como ao aumento dos níveis de AGCC.<sup>25</sup>

Este e outros estudos apontam para o previsível papel preventivo deste tipo de dieta na disbiose, embora estes dados não estejam clarificados e necessitem de mais estudos para a sua recomendação a nível clínico.<sup>63,64</sup>

## Conclusão

A compreensão da fisiopatologia da DII tem vindo a aprofundar-se nos últimos anos e, em consequência, tem-se percebido progressivamente o papel irrefutável da microbiota intestinal no desenvolvimento e manutenção da patologia. Esta vertente é pautada essencialmente pela redução da biodiversidade e perturbação da estabilidade temporal da composição da flora intestinal, verificando-se um *shift* das estirpes anti-inflamatórias para as estirpes prejudiciais à homeostasia. Objetivando, verifica-se uma depleção do filo *Firmicutes* na microbiota dos pacientes com DII face à população saudável, com particular destaque para a *Faecalibacterium prausnitzii* que exerce um papel fundamental no equilíbrio do trato intestinal. Por sua vez, assiste-se a um enriquecimento das bactérias do filo *Proteobacteria* nestes indivíduos, nomeadamente de bactérias pautadas por um maior potencial patogénico das quais se realça a *Escherichia coli* aderente-invasiva.<sup>33</sup>

O reconhecimento da microbiota intestinal como elemento integrante da DII abriu um novo mundo ao nível da investigação no âmbito da CU e DC, nomeadamente com o desenvolvimento de biomarcadores e novas estratégias terapêuticas profundamente necessárias para a otimização das problemáticas enfrentadas pelos pacientes, clínicos e globalidade do sistema de saúde nesta área.

No que concerne aos biomarcadores, embora não existam, até ao momento, provas suficientes da sua aplicabilidade na prática clínica, tem-se vindo a evidenciar o seu potencial em diversos contextos da abordagem da DII. De facto, a microbiota intestinal tem-se revelado promissora para o desenvolvimento de meios auxiliares de diagnóstico e distinção da CU e DC, como marcador de gravidade e evolução das patologias, assim como fator preditivo da resposta ao tratamento, nomeadamente ao Infliximab, permitindo, desta forma, assistir na resolução daqueles que são alguns dos desafios supramencionados.

No domínio do tratamento, até à data, este tem visto a sua base fundamentada essencialmente na vertente imunológica da fisiopatologia da DII, sem atender ao restante contexto interventivo na doença. Com o esclarecimento da restante fisiopatologia, a intervenção ao nível dos outros componentes da mesma vê-se inevitável e pode mesmo conduzir a uma reestruturação da visão terapêutica da CU e DC. O investimento na microbiota intestinal já se revelou proveitoso na medida em que o probiótico VSL#3 já se encontra incorporado e recomendado na abordagem terapêutica de manutenção da remissão e profilaxia da bursite na CU.<sup>62</sup> O EcN, por sua vez, tem-se revelado análogo à mesalazina em termos de eficácia na manutenção da CU na sua fase quiescente em diversos ensaios clínicos, existindo potencial para a

sua futura inserção nas orientações terapêuticas desta patologia. Paralelamente, o TMF tem-se verificado uma estratégia de tratamento promissora no âmbito da microbiota intestinal, nomeadamente na indução da remissão clínica da CU de gravidade leve a moderada.

Ainda assim, existem vários fatores a serem esclarecidos de forma a se proceder a uma compreensão global desta temática que sustente a mudança da prática clínica com base na mesma. Em destaque encontra-se a necessidade da realização de mais estudos da microbiota intestinal em amostras de biópsias da mucosa e a sua devida comparação com os dados existentes em amostras fecais para uma elucidação abrangente e exata da composição do microbioma na patologia. Em adição revela-se essencial uma investigação mais aprofundada a nível da metatranscriptómica no sentido de compreender a verdadeira influência das alterações taxonómicas em termos funcionais que, presumivelmente, terão um maior impacto no âmbito fisiopatológico. Finalmente, assume-se imperativo proceder à execução de um maior número de ensaios clínicos que corroborem e aproximem as evidências demonstradas ao quotidiano clínico.

Desta forma, a presente revisão sistemática permitiu verificar a indubitável influência da microbiota intestinal na DII bem como constatar as perspetivas existentes para a manipulação desta vida no sentido de reformular a estratégia de gestão da patologia com vista à otimização da mesma.

## Bibliografia

1. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: Pathogenesis. *World J Gastroenterol WJG*. 2014;20(1):91-99. doi:10.3748/wjg.v20.i1.91
2. Abraham BP, Ahmed T, Ali T. Inflammatory Bowel Disease: Pathophysiology and Current Therapeutic Approaches. *Handb Exp Pharmacol*. 2017;239:115-146. doi:10.1007/164\_2016\_122
3. Sairenji T, Collins KL, Evans DV. An Update on Inflammatory Bowel Disease. *Prim Care*. 2017;44(4):673-692. doi:10.1016/j.pop.2017.07.010
4. Mak WY, Zhao M, Ng SC, Burisch J. The epidemiology of inflammatory bowel disease: East meets west. *J Gastroenterol Hepatol*. 2020;35(3):380-389. doi:10.1111/jgh.14872
5. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet Lond Engl*. 2017;390(10114):2769-2778. doi:10.1016/S0140-6736(17)32448-0
6. Santiago M, Magro F, Correia L, et al. What forecasting the prevalence of inflammatory bowel disease may tell us about its evolution on a national scale. *Ther Adv Gastroenterol*. 2019;12:1756284819860044. doi:10.1177/1756284819860044
7. Malik TA. Inflammatory Bowel Disease: Historical Perspective, Epidemiology, and Risk Factors. *Surg Clin North Am*. 2015;95(6):1105-1122, v. doi:10.1016/j.suc.2015.07.006
8. Ananthakrishnan AN, Kaplan GG, Ng SC. Changing Global Epidemiology of Inflammatory Bowel Diseases: Sustaining Health Care Delivery Into the 21st Century. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2020;18(6):1252-1260. doi:10.1016/j.cgh.2020.01.028
9. Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis. *Lancet Lond Engl*. 2012;380(9853):1606-1619. doi:10.1016/S0140-6736(12)60150-0
10. Roda G, Chien Ng S, Kotze PG, et al. Crohn's disease. *Nat Rev Dis Primer*. 2020;6(1):22. doi:10.1038/s41572-020-0156-2
11. Torres J, Mehandru S, Colombel JF, Peyrin-Biroulet L. Crohn's disease. *The Lancet*. 2017;389(10080):1741-1755. doi:10.1016/S0140-6736(16)31711-1
12. Kobayashi T, Siegmund B, Le Berre C, et al. Ulcerative colitis. *Nat Rev Dis Primer*. 2020;6(1):74. doi:10.1038/s41572-020-0205-x
13. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Classification of inflammatory bowel disease: the old and the new. *Curr Opin Gastroenterol*. 2012;28(4):321-326. doi:10.1097/MOG.0b013e328354be1e
14. Maaser C, Sturm A, Vavricka SR, et al. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *J Crohns Colitis*. 2019;13(2):144-164. doi:10.1093/ecco-jcc/jjy113

15. Gomollón F, Dignass A, Annese V, et al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 1: Diagnosis and Medical Management. *J Crohns Colitis*. 2017;11(1):3-25. doi:10.1093/ecco-jcc/jjw168
16. Ungaro R, Mehandru S, Allen PB, Peyrin-Biroulet L, Colombel JF. Ulcerative colitis. *Lancet Lond Engl*. 2017;389(10080):1756-1770. doi:10.1016/S0140-6736(16)32126-2
17. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, et al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, Diagnosis, Extra-intestinal Manifestations, Pregnancy, Cancer Surveillance, Surgery, and Ileo-anal Pouch Disorders. *J Crohns Colitis*. 2017;11(6):649-670. doi:10.1093/ecco-jcc/jjx008
18. Nikolaus S, Schreiber S. Diagnostics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2007;133(5):1670-1689. doi:10.1053/j.gastro.2007.09.001
19. Guan Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *J Immunol Res*. 2019;2019:7247238. doi:10.1155/2019/7247238
20. Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J Gastroenterol*. 2014;20(1):91-99. doi:10.3748/wjg.v20.i1.91
21. Henderson P, Satsangi J. Genes in inflammatory bowel disease: lessons from complex diseases. *Clin Med*. 2011;11(1):8-10. doi:10.7861/clinmedicine.11-1-8
22. Abegunde AT, Muhammad BH, Bhatti O, Ali T. Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: Evidence based literature review. *World J Gastroenterol*. 2016;22(27):6296-6317. doi:10.3748/wjg.v22.i27.6296
23. Nishida A, Inoue R, Inatomi O, Bamba S, Naito Y, Andoh A. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin J Gastroenterol*. 2018;11(1):1-10. doi:10.1007/s12328-017-0813-5
24. Matsuoka K, Kanai T. The gut microbiota and inflammatory bowel disease. *Semin Immunopathol*. 2015;37(1):47-55. doi:10.1007/s00281-014-0454-4
25. Ortigão R, Pimentel-Nunes P, Dinis-Ribeiro M, Libânio D. Gastrointestinal Microbiome – What We Need to Know in Clinical Practice. *GE - Port J Gastroenterol*. 2020;27(5):336-351. doi:10.1159/000505036
26. Aldars-García L, Chaparro M, Gisbert JP. Systematic Review: The Gut Microbiome and Its Potential Clinical Application in Inflammatory Bowel Disease. *Microorganisms*. 2021;9(5):977. doi:10.3390/microorganisms9050977
27. Ananthakrishnan AN. Microbiome-Based Biomarkers for IBD. *Inflamm Bowel Dis*. 2020;26(10):1463-1469. doi:10.1093/ibd/izaa071
28. Jeong DY, Kim S, Son MJ, et al. Induction and maintenance treatment of inflammatory bowel disease: A comprehensive review. *Autoimmun Rev*. 2019;18(5):439-454. doi:10.1016/j.autrev.2019.03.002
29. Palmela C, Torres J, Cravo M. New Trends in Inflammatory Bowel Disease. *GE - Port J Gastroenterol*. 2015;22(3):103-111. doi:10.1016/j.jpge.2015.03.009

30. Torres J, Bonovas S, Doherty G, et al. ECCO Guidelines on Therapeutics in Crohn's Disease: Medical Treatment. *J Crohns Colitis*. 2020;14(1):4-22. doi:10.1093/ecco-jcc/jjz180
31. Raine T, Bonovas S, Burisch J, et al. ECCO Guidelines on Therapeutics in Ulcerative Colitis: Medical Treatment. *J Crohns Colitis*. Published online October 12, 2021:jjab178. doi:10.1093/ecco-jcc/jjab178
32. Shapiro JM, de Zoete MR, Palm NW, et al. Immunoglobulin A Targets a Unique Subset of the Microbiota in Inflammatory Bowel Disease. *Cell Host Microbe*. 2021;29(1):83-93.e3. doi:10.1016/j.chom.2020.12.003
33. Dong LN, Wang M, Guo J, Wang JP. Role of intestinal microbiota and metabolites in inflammatory bowel disease. *Chin Med J (Engl)*. 2019;132(13):1610-1614. doi:10.1097/CM9.0000000000000290
34. Wang W, Chen L, Zhou R, et al. Increased proportions of Bifidobacterium and the Lactobacillus group and loss of butyrate-producing bacteria in inflammatory bowel disease. *J Clin Microbiol*. 2014;52(2):398-406. doi:10.1128/JCM.01500-13
35. Prosberg M, Bendtsen F, Vind I, Petersen AM, Gluud LL. The association between the gut microbiota and the inflammatory bowel disease activity: a systematic review and meta-analysis. *Scand J Gastroenterol*. 2016;51(12):1407-1415. doi:10.1080/00365521.2016.1216587
36. Serrano-Gómez G, Mayorga L, Oyarzun I, et al. Dysbiosis and relapse-related microbiome in inflammatory bowel disease: A shotgun metagenomic approach. *Comput Struct Biotechnol J*. 2021;19:6481-6489. doi:10.1016/j.csbj.2021.11.037
37. Lee M, Chang EB. Inflammatory Bowel Diseases (IBD) and the Microbiome-Searching the Crime Scene for Clues. *Gastroenterology*. 2021;160(2):524-537. doi:10.1053/j.gastro.2020.09.056
38. Glassner KL, Abraham BP, Quigley EMM. The microbiome and inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;145(1):16-27. doi:10.1016/j.jaci.2019.11.003
39. Liu S, Zhao W, Lan P, Mou X. The microbiome in inflammatory bowel diseases: from pathogenesis to therapy. *Protein Cell*. 2021;12(5):331-345. doi:10.1007/s13238-020-00745-3
40. Zhou Y, Zhi F. Lower Level of Bacteroides in the Gut Microbiota Is Associated with Inflammatory Bowel Disease: A Meta-Analysis. *BioMed Res Int*. 2016;2016:5828959. doi:10.1155/2016/5828959
41. Palmela C, Chevarin C, Xu Z, et al. Adherent-invasive Escherichia coli in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2018;67(3):574-587. doi:10.1136/gutjnl-2017-314903
42. Pittayanon R, Lau JT, Leontiadis GI, et al. Differences in Gut Microbiota in Patients With vs Without Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review. *Gastroenterology*. 2020;158(4):930-946.e1. doi:10.1053/j.gastro.2019.11.294
43. Clooney AG, Eckenberger J, Laserna-Mendieta E, et al. Ranking microbiome variance in inflammatory bowel disease: a large longitudinal intercontinental study. *Gut*. 2021;70(3):499-510. doi:10.1136/gutjnl-2020-321106

44. Schirmer M, Franzosa EA, Lloyd-Price J, et al. Dynamics of metatranscription in the inflammatory bowel disease gut microbiome. *Nat Microbiol.* 2018;3(3):337-346. doi:10.1038/s41564-017-0089-z
45. Kellermayer R, Zilbauer M. The Gut Microbiome and the Triple Environmental Hit Concept of Inflammatory Bowel Disease Pathogenesis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2020;71(5):589-595. doi:10.1097/MPG.0000000000002908
46. Pascal V, Pozuelo M, Borrueal N, et al. A microbial signature for Crohn's disease. *Gut.* 2017;66(5):813-822. doi:10.1136/gutjnl-2016-313235
47. Zhou Y, Xu ZZ, He Y, et al. Gut Microbiota Offers Universal Biomarkers across Ethnicity in Inflammatory Bowel Disease Diagnosis and Infliximab Response Prediction. *mSystems.* 2018;3(1):e00188-17. doi:10.1128/mSystems.00188-17
48. Xu C, Zhou M, Xie Z, Li M, Zhu X, Zhu H. LightCUD: a program for diagnosing IBD based on human gut microbiome data. *BioData Min.* 2021;14(1):2. doi:10.1186/s13040-021-00241-2
49. Hattori S, Nakamura M, Yamamura T, et al. The microbiome can predict mucosal healing in small intestine in patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol.* 2020;55(12):1138-1149. doi:10.1007/s00535-020-01728-1
50. Fukuda K, Fujita Y. Determination of the discriminant score of intestinal microbiota as a biomarker of disease activity in patients with ulcerative colitis. *BMC Gastroenterol.* 2014;14:49. doi:10.1186/1471-230X-14-49
51. Ventin-Holmberg R, Eberl A, Saqib S, et al. Bacterial and Fungal Profiles as Markers of Infliximab Drug Response in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis.* 2021;15(6):1019-1031. doi:10.1093/ecco-jcc/jjaa252
52. Zhuang X, Tian Z, Feng R, et al. Fecal Microbiota Alterations Associated With Clinical and Endoscopic Response to Infliximab Therapy in Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2020;26(11):1636-1647. doi:10.1093/ibd/izaa253
53. Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl.* 2017;389(10075):1218-1228. doi:10.1016/S0140-6736(17)30182-4
54. Dang X, Xu M, Liu D, Zhou D, Yang W. Assessing the efficacy and safety of fecal microbiota transplantation and probiotic VSL#3 for active ulcerative colitis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2020;15(3):e0228846. doi:10.1371/journal.pone.0228846
55. Sokol H, Landman C, Seksik P, et al. Fecal microbiota transplantation to maintain remission in Crohn's disease: a pilot randomized controlled study. *Microbiome.* 2020;8(1):12. doi:10.1186/s40168-020-0792-5
56. Kruis W, Frick P, Pokrotnieks J, et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut.* 2004;53(11):1617-1623. doi:10.1136/gut.2003.037747
57. Sood A, Midha V, Makharia GK, et al. The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin*

- Pract J Am Gastroenterol Assoc.* 2009;7(11):1202-1209, 1209.e1.  
doi:10.1016/j.cgh.2009.07.016
58. Mimura T, Rizzello F, Helwig U, et al. Once daily high dose probiotic therapy (VSL#3) for maintaining remission in recurrent or refractory pouchitis. *Gut.* 2004;53(1):108-114.
  59. Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, et al. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology.* 2003;124(5):1202-1209. doi:10.1016/s0016-5085(03)00171-9
  60. Gionchetti P, Rizzello F, Morselli C, et al. High-dose probiotics for the treatment of active pouchitis. *Dis Colon Rectum.* 2007;50(12):2075-2082; discussion 2082-2084. doi:10.1007/s10350-007-9068-4
  61. Akram W, Garud N, Joshi R. Role of inulin as prebiotics on inflammatory bowel disease. *Drug Discov Ther.* 2019;13(1):1-8. doi:10.5582/ddt.2019.01000
  62. Harbord M, Eliakim R, Bettenworth D, et al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 2: Current Management. *J Crohns Colitis.* 2017;11(7):769-784. doi:10.1093/ecco-jcc/jjx009
  63. Tomasello G, Mazzola M, Leone A, et al. Nutrition, oxidative stress and intestinal dysbiosis: Influence of diet on gut microbiota in inflammatory bowel diseases. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czechoslov.* 2016;160(4):461-466. doi:10.5507/bp.2016.052
  64. Illescas O, Rodríguez-Sosa M, Gariboldi M. Mediterranean Diet to Prevent the Development of Colon Diseases: A Meta-Analysis of Gut Microbiota Studies. *Nutrients.* 2021;13(7):2234. doi:10.3390/nu13072234

## Anexos

### [Tabela I] - Classificação de Montreal da Doença de Crohn

Adaptada de: Vermeire, S. et al. 2012 "Classification of inflammatory bowel disease: the old and the new."<sup>13</sup>

Classificação de Montreal da Doença de Crohn		
<b>Idade ao diagnóstico</b>		
	<b>A1</b>	≤ 16 anos
	<b>A2</b>	17-40 anos
	<b>A3</b>	>40 anos
<b>Localização</b>		
	<b>L1</b>	Íleo
	<b>L2</b>	Cólon
	<b>L3</b>	Íleo-cólon
	<b>L4</b>	Trato gastrointestinal superior <sup>a</sup>
<b>Comportamento</b>		
	<b>B1</b>	Não estenosante/ Não penetrante
	<b>B2</b>	Estenosante
	<b>B3</b>	Penetrante
	<b>p</b>	Modificador de doença perianal <sup>b</sup>

<sup>a</sup>L4 é um fator modificador que pode ser adicionado a L1-L3 quando existe comprometimento concomitante do trato gastrointestinal superior

<sup>b</sup>p é adicionado a B1-B3 quando se verifica doença perianal concomitante

### [Tabela II] - Classificação de Montreal da Colite Ulcerosa

Adaptada de: Vermeire, S. et al. 2012 "Classification of inflammatory bowel disease: the old and the new."<sup>13</sup>

Classificação de Montreal da Colite Ulcerosa		
	<b>Extensão</b>	<b>Anatomia</b>
<b>E1</b>	Proctite	Envolvimento limitado ao reto (inflamação limitada distalmente à junção reto-sigmoide)
<b>E2</b>	Colite ulcerosa (CU distal)	Envolvimento limitado à porção colorretal distal ao ângulo esplênico
<b>E3</b>	Colite ulcerosa extensa (Pancolite)	Envolvimento que se estende proximalmente ao ângulo esplênico
	<b>Gravidade</b>	<b>Definição</b>
<b>S0</b>	Remissão Clínica	Assintomática
<b>S1</b>	CU Leve	≤4 Dejeções/dia (com ou sem sangue), ausência de doença sistêmica e marcadores inflamatórios normais

<b>S2</b>	CU Moderada	>4 Dejeções/dia com sintomas sistêmicos mínimos
<b>S3</b>	CU Grave	≥6 Dejeções sanguinolentas/dia, Frequência cardíaca ≥90bpm, Temperatura ≥37,5°C, Hemoglobina <10,5g/dL e Velocidade de sedimentação ≥30mm/h

[Tabela III] - Comparação das características diagnósticas da Colite Ulcerosa e Doença de Crohn

Adaptada de: Sairenji, T. et al. 2017 “An Update on Inflammatory Bowel Disease.”

Característica	Doença de Crohn	Colite Ulcerosa
<b>História</b>		
Início	Dias/Semanas	Semanas/Meses
Localização	Trato Gastrointestinal	Reto com progressão proximal
Dor abdominal	Comum	Rara
Hemorragia retal	+	++
Sintomas constitucionais	+++	+
<b>Exame Objetivo</b>		
Febre	+++	+
Sensibilidade abdominal	+++	+
Doença perianal	+++	+
Alterações oculares e musculoesqueléticas	+++	-
<b>Laboratoriais</b>		
Anemia	+++	++
Aumento PCR e VS	+++	+
ASCA	++	-
p-ANCA	+	+++
<b>Endoscópicas</b>		
Atingimento retal	+/-	+++
Atingimento contínuo da mucosa	+	+++
Alterações transmurais na biópsia	+++	-
Granulomas	+++	+

PCR: Proteína C reativa; VS: Velocidade de sedimentação; ASCA: Anticorpos anti-*Saccharomyces cerevisiae*; p-Anca: anticorposperinuclear anti-citoplasma de neutrófilos

**[Tabela IV] - Fatores ambientais implicados na fisiopatologia da Doença Inflamatória Intestinal**

Adaptada de: Abegunde AT et al. 2016 “Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: Evidence based literature review”<sup>22</sup>

Fatores ambientais	Efeito na DII
<b>Tabagismo</b>	Fator de risco para DC; Fator protetor para CU
<b>Distúrbios do sono</b>	Fator de risco para DC e CU
<b>Dieta</b>	Fator modulador do risco de DC e CU
<b>Antibióticos</b>	Fator de risco para DC e CU
<b>Contracetivos Orais</b>	Fator de risco para DC e CU
<b>Poluição</b>	Aumenta o risco de DC e CU
<b>Escassez de vitamina D</b>	Fator de risco de progressão da DII
<b>Apendicectomia</b>	Fator protetor para CU

**[Tabela V] - Fatores prognósticos na Doença de Crohn e o seu impacto na evolução da doença**

Adaptada de: Palmela, C. et al. 2015 “New Trends in Inflammatory Bowel Disease.”<sup>29</sup>

Fator prognóstico	Impacto na Evolução da Doença
<b>&lt;40 anos ao diagnóstico</b>	DC incapacitante DC complicada (incluindo cirurgia) Recorrência da doença
<b>Comportamento estenosante (B2)</b>	DC complicada (incluindo cirurgia) DC grave Taxa de recorrência superior
<b>Comportamento penetrante</b>	DC complicada
<b>Localizada no íleo (L1)</b>	DC complicada (incluindo cirurgia e progressão do comportamento)
<b>Localização ileo-cólica (L3)</b>	DC incapacitante Necessidade cirúrgica
<b>Atingimento do trato gastrointestinal superior (L4)</b>	DC complicada (incluindo cirurgia)
<b>Doença perianal</b>	DC incapacitante DC complicada
<b>Tabagismo</b>	DC complicada Taxa de recorrência superior >Risco de doença perianal
<b>Perda de peso &gt; 5kg ao diagnóstico</b>	DC grave
<b>Número elevado de exacerbações/ano</b>	Progressão para comportamento penetrante e doença perianal
<b>Doença com duração &gt; 10 anos</b>	DC complicada
<b>Lesões endoscópicas graves (úlceras profundas) ao diagnóstico</b>	>Risco de complicações penetrantes e necessidade cirúrgica
<b>Necessidade de corticosteroides para</b>	DC incapacitante

tratamento da primeira exacerbação	
------------------------------------	--

[Tabela VI] - Fatores prognósticos na Colite Ulcerosa e o seu impacto na evolução da doença

Adaptada de: Palmela, C. et al. 2015 "New Trends in Inflammatory Bowel Disease."<sup>29</sup>

Fator prognóstico	Impacto na Evolução da Doença
Idade jovem ao diagnóstico	CU complicada (incluindo colectomia)
Sexo masculino	Necessidade de colectomia
Colite extensa	CU complicada (incluindo colectomia)
Doença grave ao diagnóstico	Necessidade de colectomia
Score histológico inflamatório elevado	Necessidade de colectomia
Doença com duração > 10 anos	Necessidade de colectomia
Utilização de corticosteroides	Necessidade de colectomia
Resistência aos corticosteroides	Necessidade de colectomia
Colangite esclerosante primária	CU complicada (cancro colorretal)

[Tabela VII] - Resultados da *area under the curve* e precisão média dos modelos constituintes do LightCUD

Adaptada de: Xu, C. et al. 2021 "LightCUD: a program for diagnosing IBD based on human gut microbiome data."<sup>48</sup>

		AUC	PM
Modelos WGS	DII vs Saudável	0,984	0,947
	CU vs DC	0,989	0,953
Modelos 16S rRNA	DII vs Saudável	0,968	0,963
	CU vs DC	0,966	0,917

**[Tabela VIII] - Alterações na microbiota intestinal características do grau de gravidade da Doença Inflamatória Intestinal**

Adaptada de: Zhou, Y. *et al.* 2018 "Gut Microbiota Offers Universal Biomarkers across Ethnicity in Inflammatory Bowel Disease Diagnosis and Infliximab Response Prediction."<sup>47</sup>

	Grau de Gravidade	
	Leve	Moderado a Grave
Alterações características na DC	↑ <i>Streptococcus</i>	↑ <i>Proteobacteria</i> e <i>Enterococcaceae</i> ↓ <i>Ruminococcaceae</i> e <i>Clostridiales</i>
Alterações características na CU	↑ <i>Bacteroidia</i> e <i>Pseudomonadaceae</i> ↓ <i>Clostridiales</i>	↑ <i>Streptococcus</i> ↑ <i>Proteobacteria</i> e <i>Bacilli</i> ↓ <i>Clostridiales</i>

**[Tabela IX] - Alterações na microbiota intestinal características do comportamento da Doença de Crohn**

Adaptada de: Zhou, Y. *et al.* 2018 "Gut Microbiota Offers Universal Biomarkers across Ethnicity in Inflammatory Bowel Disease Diagnosis and Infliximab Response Prediction."<sup>47</sup>

	Comportamento da DC	
	Estenosante	Penetrante
Alterações características	↑ <i>Enterobacteriaceae</i> e <i>Pseudomonadaceae</i>	↑ <i>Aeromonadaceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> e <i>Pseudomonadaceae</i>

**[Tabela X] - Elementos distintivos na constituição da microbiota intestinal inicial dos pacientes com e sem resposta ao Infiximab**

Adaptada de: Ventin-Holmberg, R. *et al.* 2021 "Bacterial and Fungal Profiles as Markers of Infiximab Drug Response in Inflammatory Bowel Disease."<sup>51</sup>

	Resposta ao Infiximab	
	Respondeu	Não respondeu
CU	-----	↑ <i>Enterococcae</i> e <i>Peptostreptococcaceae</i>
DC	↑ <i>Bacteroidales</i> e <i>Desulfovibrionales</i>	↑ <i>Bifidobacteriales</i> <i>Micrococcales</i> , <i>Lactobacillales</i> , <i>Burkholderiales</i> e <i>Pseudomonales</i>

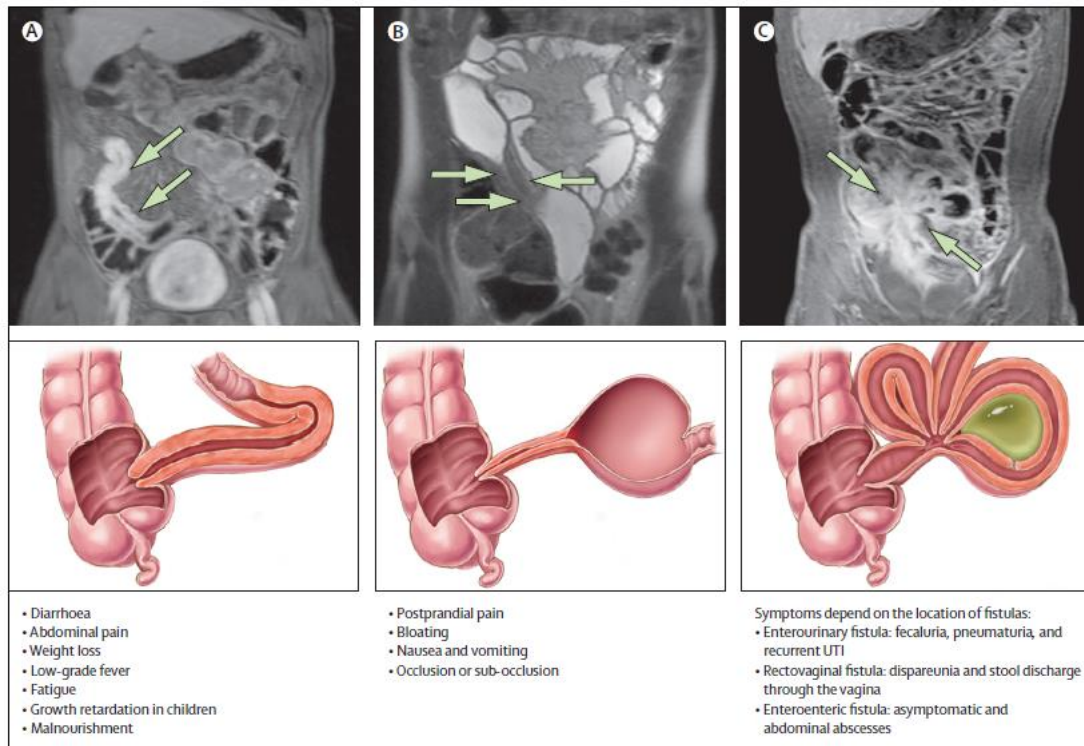
**[Tabela XI] - Outcomes primários e secundários à 8ª semana do ensaio clínico FOCUS**

Adaptada de: Paramsothy, S. *et al.* 2017 "Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial."<sup>53</sup>

	TMF (n=41)	Placebo (n=40)	Risco relativo (95% IC)	Valor p
<b>Outcome primário</b>				
Remissão clínica e endoscópica sem corticoides	11 (27%)	3 (8%)	3.6 (1,1-11,9)	0,021
<b>Outcomes secundários</b>				
Remissão clínica sem corticoides	18 (44%)	8 (20%)	2.2 (1,1-4,5)	0,021
Resposta clínica sem corticoides	22 (54%)	9 (23%)	2,4 (1,3-4,5)	0,004
Remissão endoscópica sem corticoides	5 (12%)	3 (8%)	1,6 (0,4-6,4)	0,48
Resposta endoscópica sem corticoides	13 (32%)	4 (10%)	3,2 (1,1-8,9)	0,016

**[Figura 1] - Fenótipos da Doença de Crohn de acordo com a Classificação de Montreal**

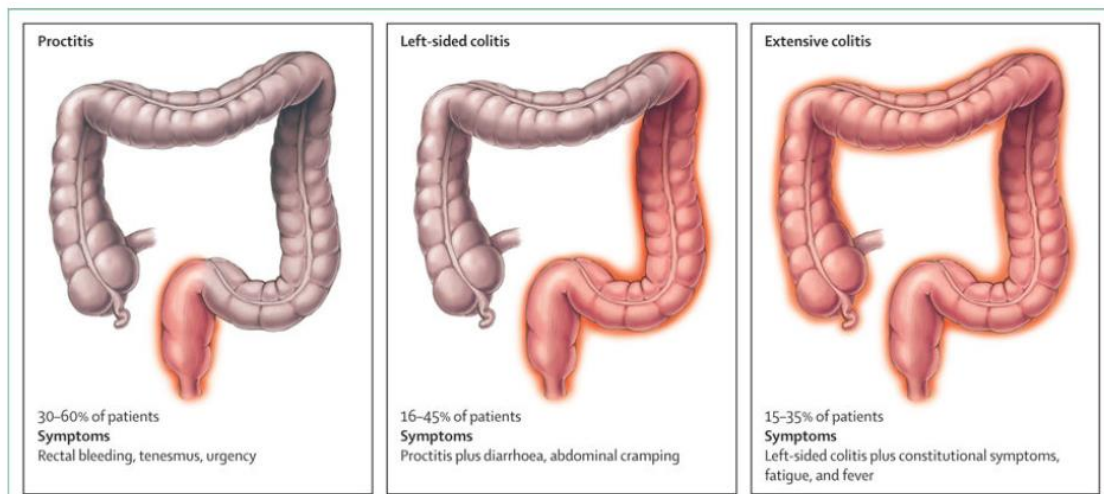
Adaptada de: Torres, J. et al. 2017 "Crohn's disease."



(A) Espessamento da parede do íleo distal (setas) em doente com DC ativo; (B) Segmento de lúmen estreitado com parede espessada e consequente dilatação a montante (setas), sugestivo de estenose; (C) imagem com ansas intestinais distribuídas de forma convergente, sugestiva de fístula enteroentérica (setas).

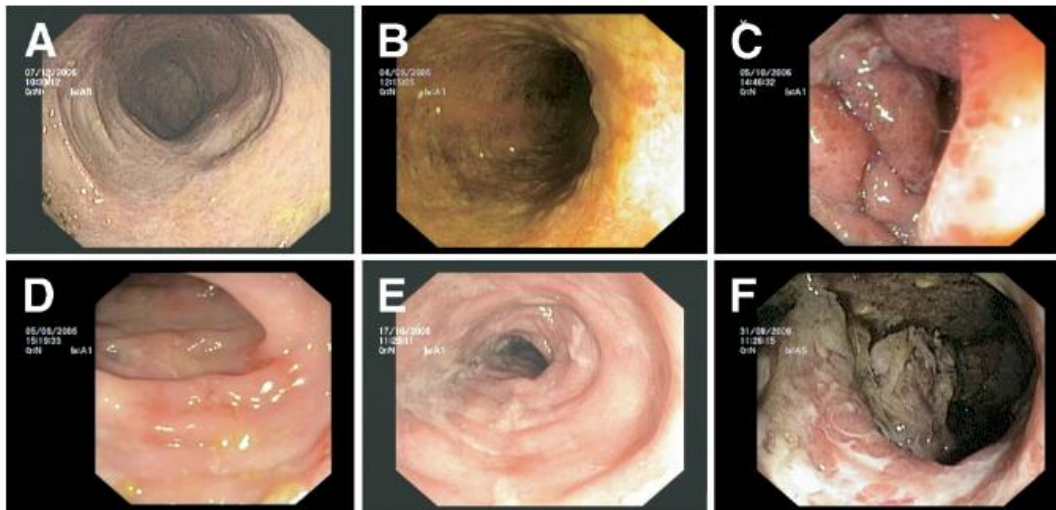
**[Figura 2] - Fenótipos da Colite Ulcerosa de acordo com a Classificação de Montreal**

Adaptada de: Ungaro, R. et al. 2017 "Ulcerative colitis." <sup>16</sup>



**[Figura 3] - Características macroscópicas da Doença Inflamatória Intestinal**

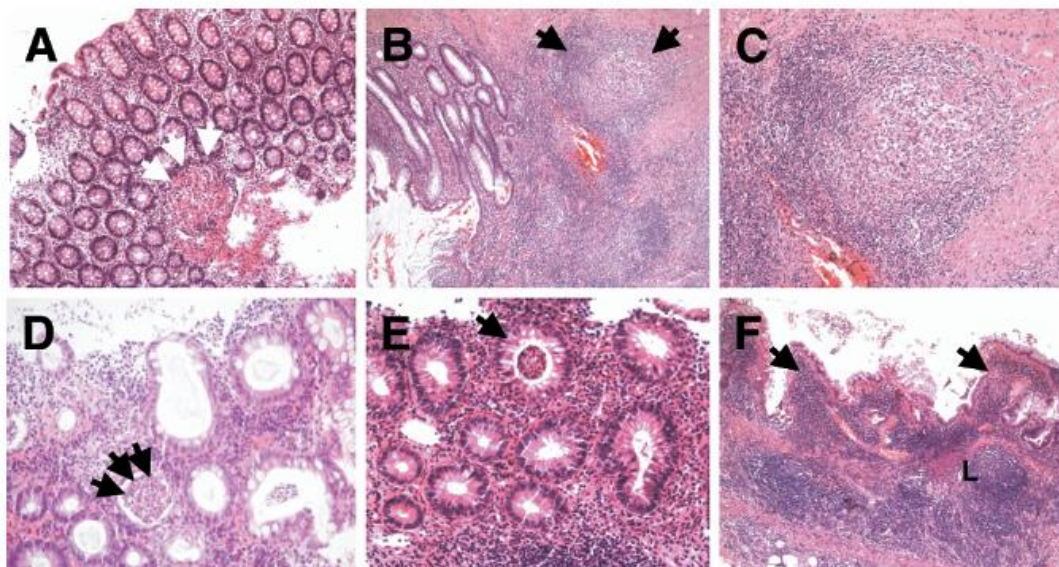
Adaptada de: Nikolaus, S. et al. 2007 "Diagnostics of inflammatory bowel disease."<sup>18</sup>



CU: (A) Inflamação leve e redução das haustrações e do padrão vascular; (B) Inflamação moderada com redução das haustrações, mucosa encontra-se edemaciada e múltiplas erosões; (C) Inflamação grave com estreitamento do lúmen por pseudopólipos  
DC: (D) Inflamação leve com lesão isolada na mucosa; (E) Inflamação moderada com úlceras longitudinais; (F) Inflamação grave com úlceras profundas;

**[Figura 4] - Características microscópicas da Doença Inflamatória Intestinal**

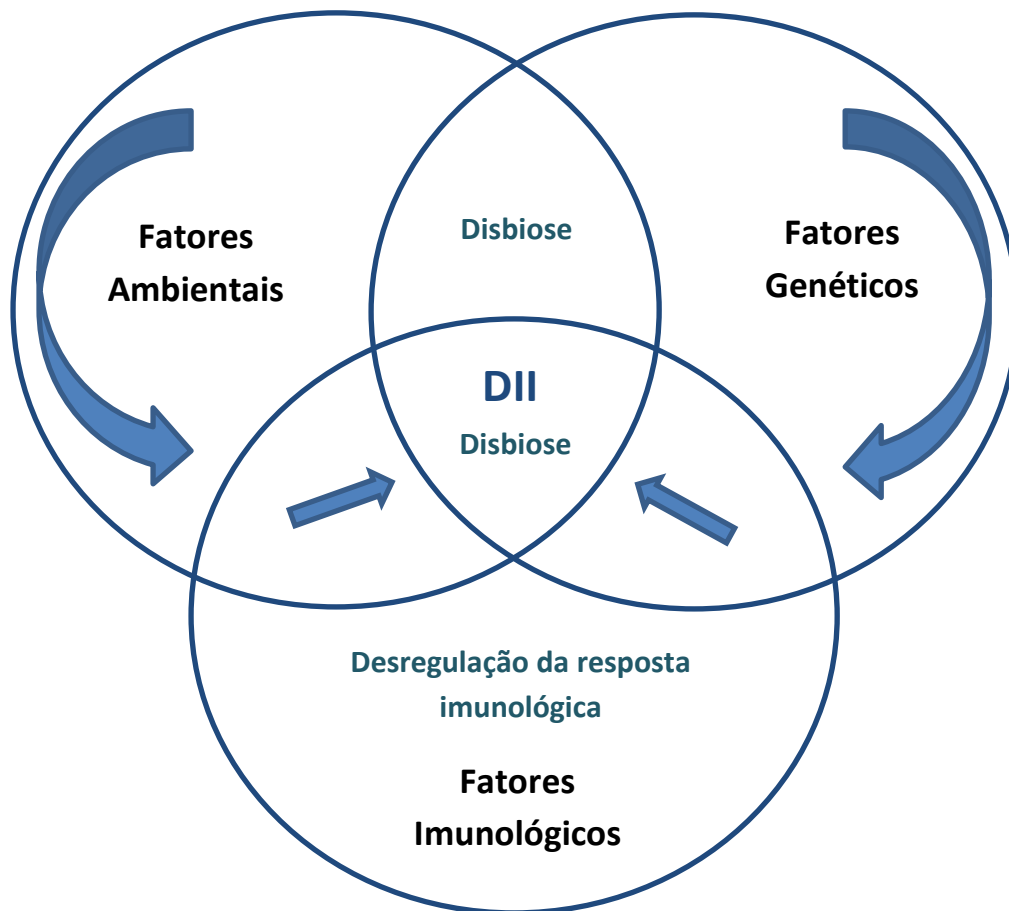
Adaptada de: Nikolaus, S. et al. 2007 "Diagnostics of inflammatory bowel disease."<sup>18</sup>



CU: (A-C) Granuloma em paciente com DC; (D,E) Abscesso de criptas na CU; (F) Pseudopólipo. L- folículo linfático

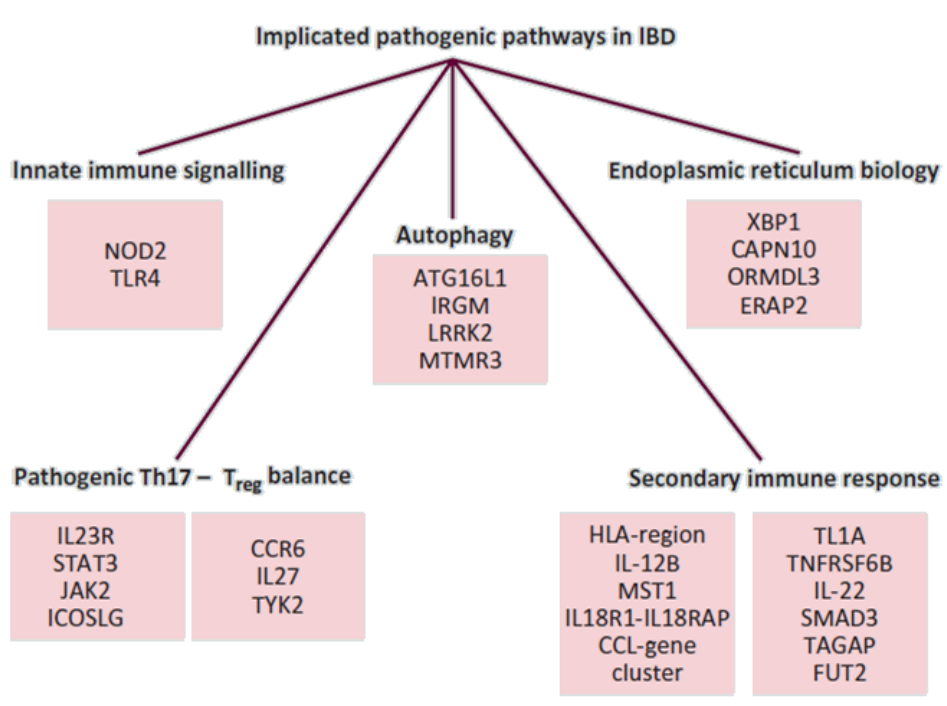
**[Figura 5] - Interação dos fatores compreendidos na fisiopatologia da Doença Inflamatória Intestinal**

Adaptada de: Abegunde A.T. et al. 2016 "Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: Evidence based literature review"<sup>22</sup>



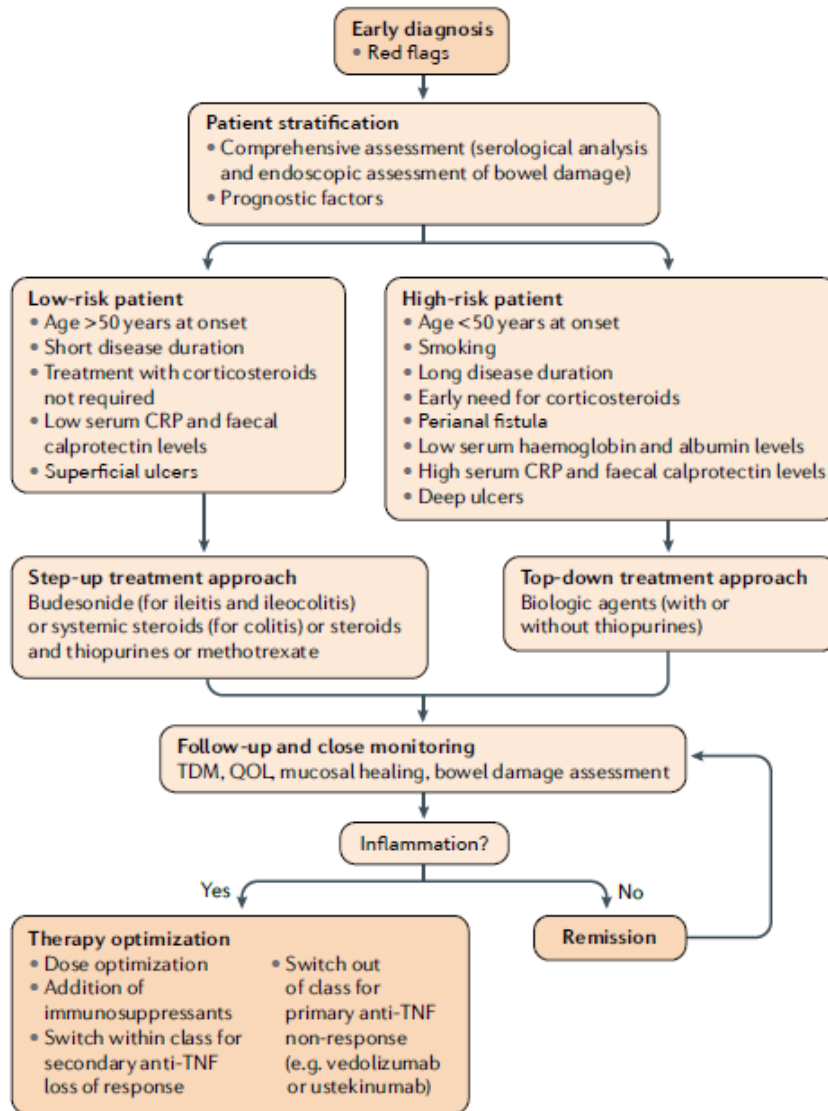
[Figura 6] - Fatores genéticos implicados na Doença Inflamatória Intestinal e as vias imunológicas em que atuam

Adaptada de: Henderson et al 2011 "Genes in inflammatory bowel disease: lessons from complex diseases"<sup>21</sup>.



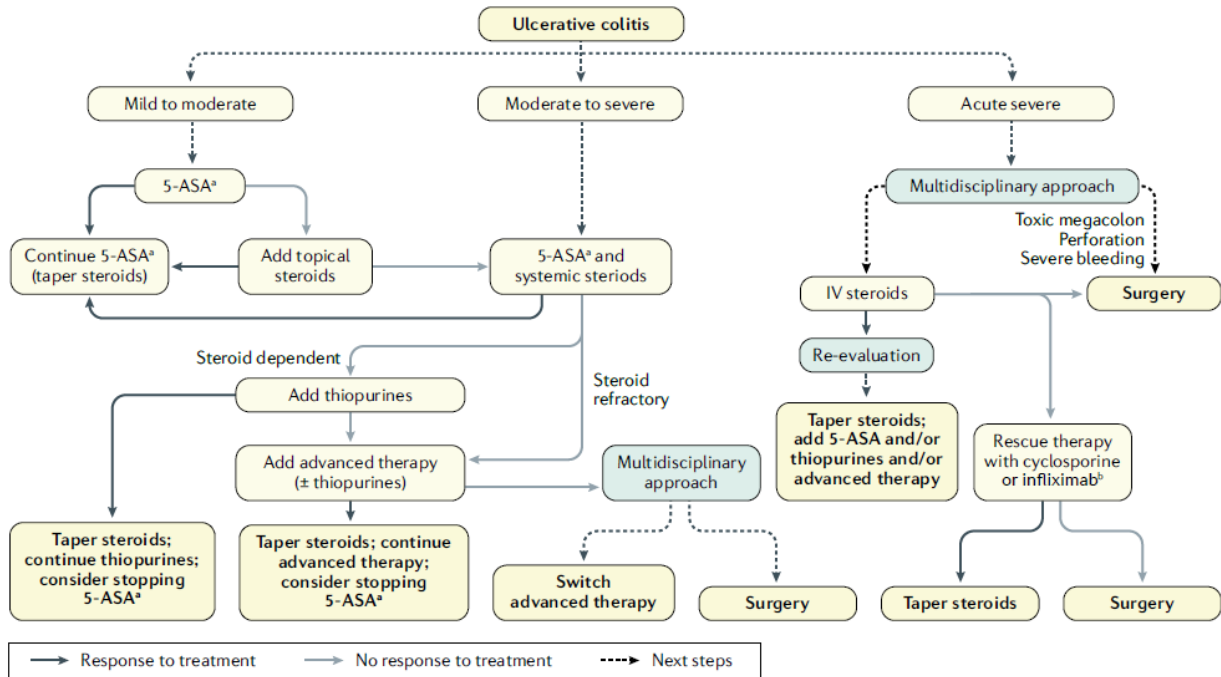
[Figura 7] - Proposta de Abordagem Terapêutica na Doença de Crohn

Adaptada de: Roda, G. *et al* 2020. "Crohn's disease."<sup>10</sup>



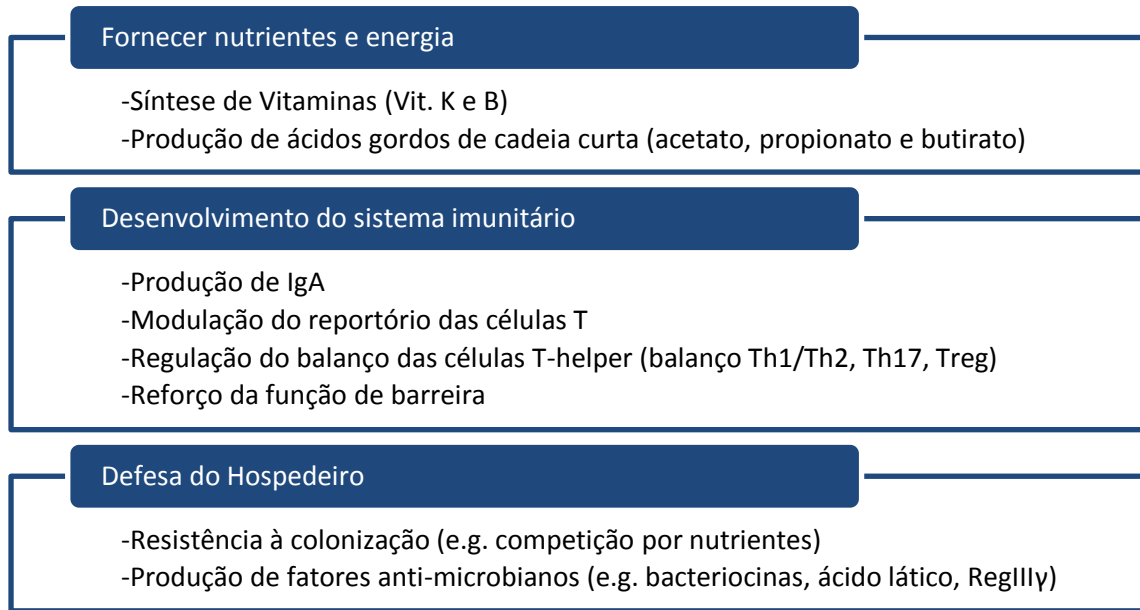
**[Figura 8] - Proposta de Abordagem Terapêutica na Colite Ulcerosa**

Adaptada de: Kobayashi, T. *et al.* 2020. "Ulcerative Colitis." <sup>12</sup>



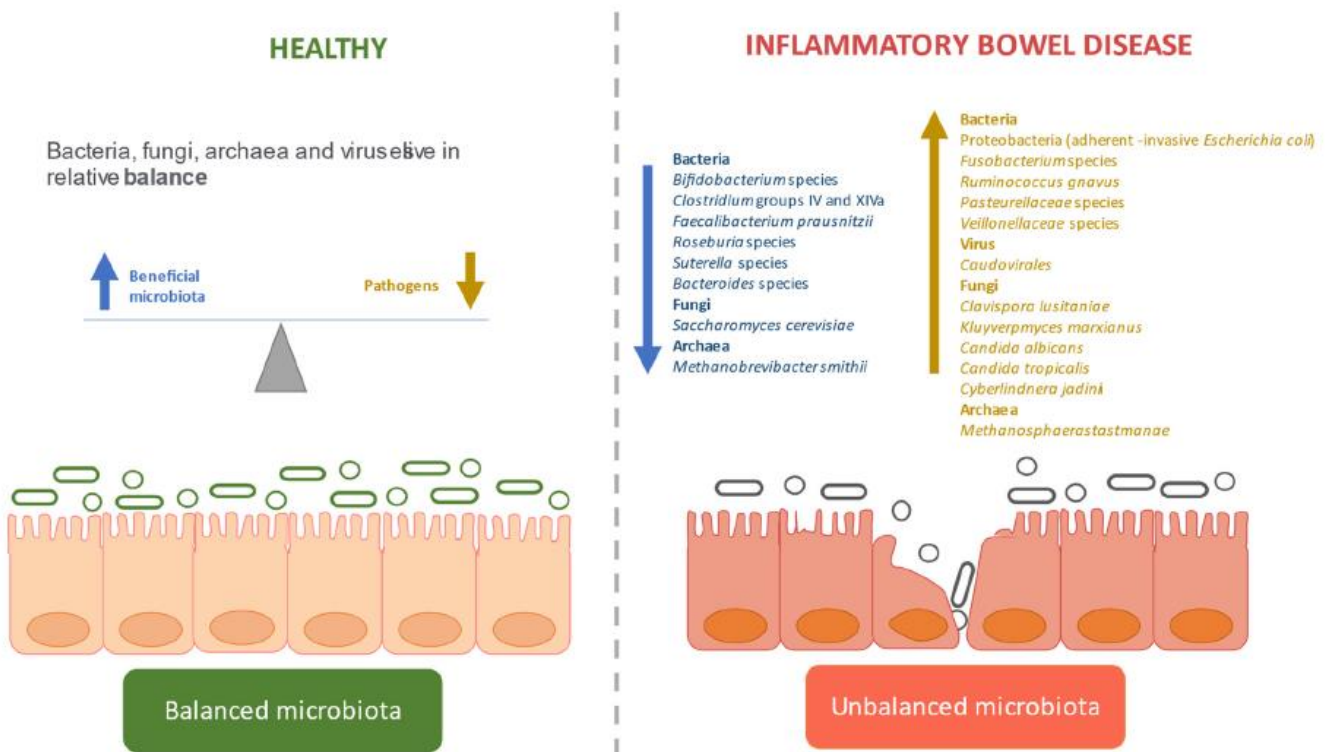
**[Figura 9]- Funções da microbiota intestinal**

Adaptada de: Nishida, A. et al. 2018 "Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease"<sup>23</sup>



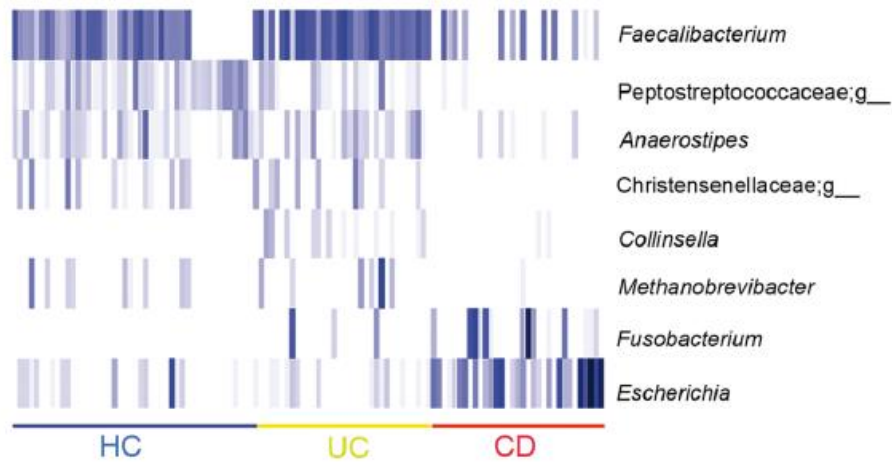
**[Figura 10] - Comparação da constituição da microbiota em indivíduos saudáveis face a doentes com Doença Inflamatória Intestinal**

Adaptada de: Aldars-García et al. 2021 "Systematic Review: The Gut Microbiome and Its Potential Clinical Application in Inflammatory Bowel Disease."<sup>26</sup>



**[Figura 11] - Gêneros bacterianos com potencial discriminatório em indivíduos com Doença de Crohn, Colite Ulcerosa e saudáveis**

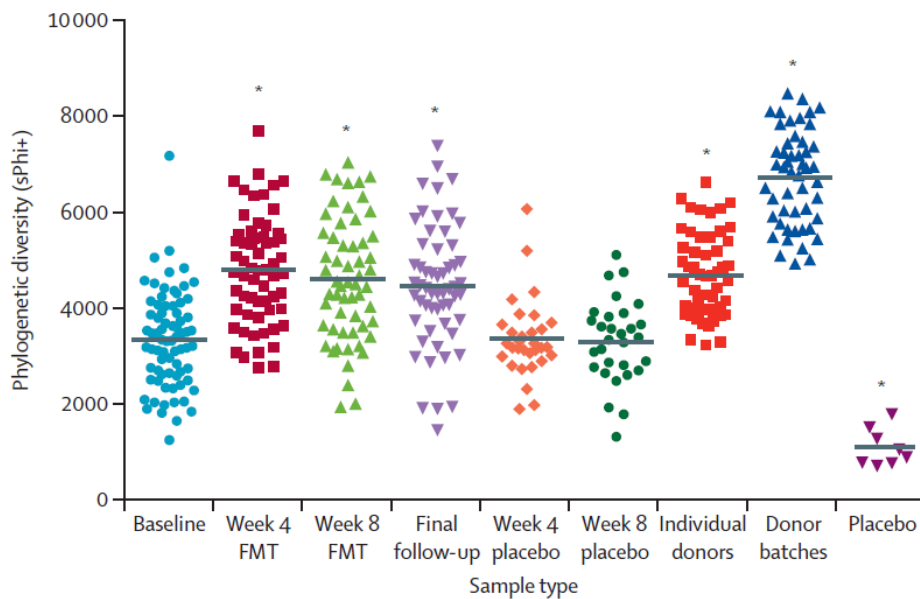
Adaptada de: Pascal, V. *et al.* 2017 "A microbial signature for Crohn's disease."



HC: Amostras de pacientes saudáveis; UC: Amostras de pacientes diagnosticados com CU; CD: Amostras de pacientes diagnosticados com DC

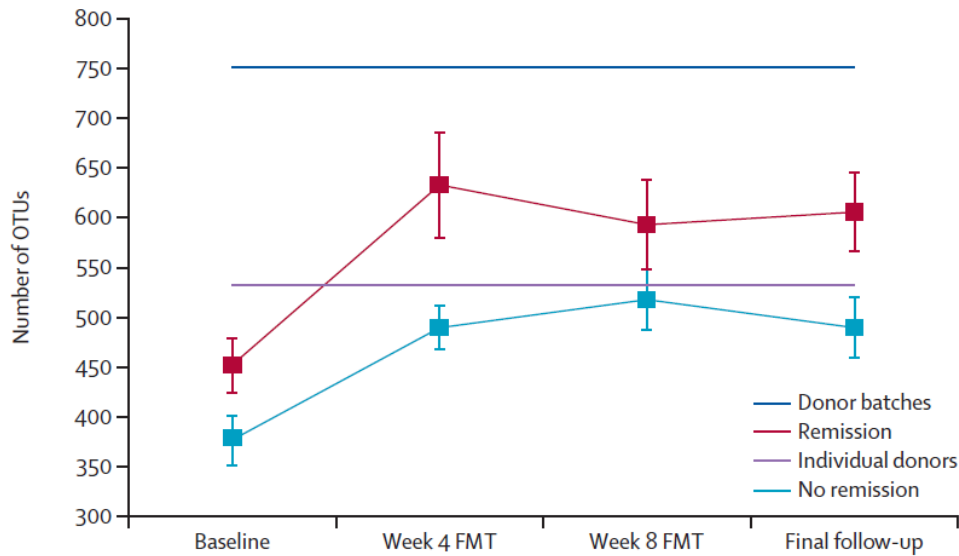
**[Figura 12] - Diversidade filogenética da microbiota das amostras fecais dos pacientes e dadores de microbiota fecal**

Adaptada de: Paramsothy, S. *et al.* 2017 "Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial."<sup>53</sup>



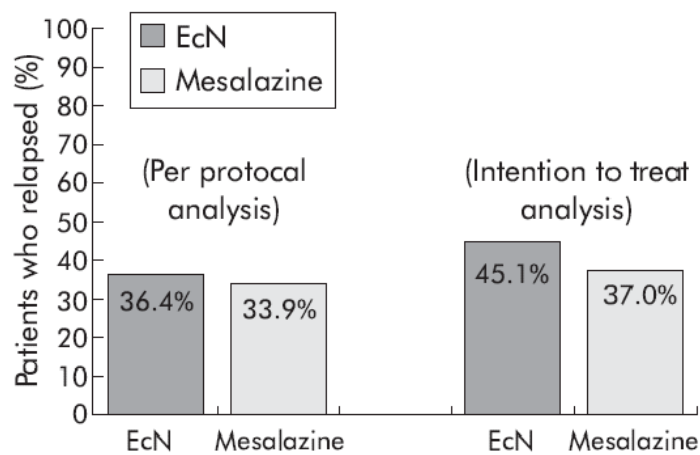
[Figura 13] - Variação da diversidade da microbiota dos pacientes ao longo do estudo de Paramsothy et al.

Adaptada de: Paramsothy, S. et al. 2017 "Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial."<sup>53</sup>



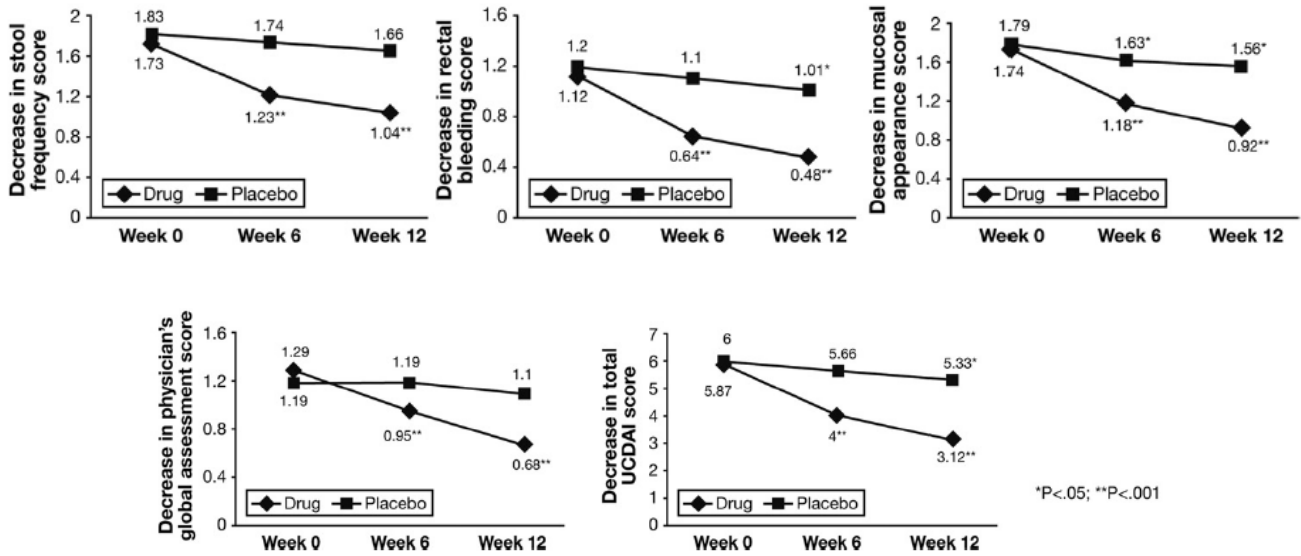
[Figura 14] - Comparação da proporção de recidiva nos pacientes tratados com *Escherichia coli* Nissle 1917 ou mesalazina

Adaptada de: Kruis, W. et al. 2004 "Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine."<sup>56</sup>



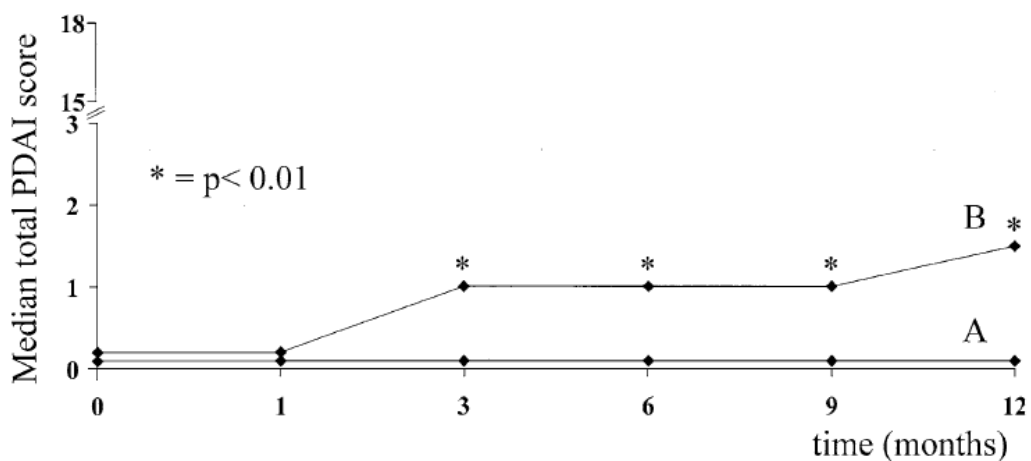
[Figura 15] - Comparação da evolução clínica do grupo tratado com VSL#3 face ao grupo controle

Adaptada de: Sood, A. *et al.* 2009 "The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis."<sup>57</sup>



[Figura 16] - Índice de atividade da doença da bursite (PDAI) na sua profilaxia com VSL#3 face ao grupo controle

Adaptada de: Gionchetti, P. *et al.* 2003 "Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial."<sup>59</sup>



A: Pacientes submetidos a VSL#3; B: Pacientes submetidos a placebo