



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Mariana Isabel Teixeira Pinto

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “A influência do Microbiota Intestinal na fisiopatologia da Obesidade e Diabetes *Mellitus* tipo 2” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Filomena Almeida e da Professora Doutora Bárbara Rocha apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019

Mariana Isabel Teixeira Pinto

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “A influência do Microbiota Intestinal na fisiopatologia da Obesidade e Diabetes *Mellitus* tipo 2” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Filomena Almeida e da Professora Doutora Bárbara Rocha, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2019



UNIVERSIDADE DE
COIMBRA

Eu, Mariana Isabel Teixeira Pinto, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014212661, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Microbiota Intestinal, Obesidade e Diabetes *Mellitus* tipo 2” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 6 de setembro de 2019.

Mariana Isabel Teixeira Pinto

(Mariana Isabel Teixeira Pinto)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais e irmãs, pelo apoio incondicional e pelas palavras de carinho e sabedoria ao longo do meu percurso académico.

Ao João, por estar sempre presente, confortando-me e acarinhando-me nos momentos mais difíceis.

À Sofia, a eterna amiga que me sempre acompanhou lado a lado, vivenciando comigo todas as conquistas e dificuldades, tendo sempre uma palavra amiga.

Às amigas de infância, Rita Neves, Catarina, Ana, Carolina e Bárbara, pelo companheirismo e amizade.

À Sofia Rabaça, Maria João, Sara Coimbra e Ana Matias, por todas as histórias vividas, recordando sempre com uma enorme felicidade. Levo-vos para a vida.

À Priscila, a melhor madrinha que a faculdade poderia ter-me dado, estando sempre disponível em me ajudar nas épocas de exames.

À minha orientadora, Professora Doutora Bárbara Rocha, pela disponibilidade, apoio e auxílio na orientação deste trabalho.

À minha orientadora de estágio, Dra Filomena Almeida, e a toda a equipa técnica da Farmácia Ferreira da Silva, por me terem acolhido e por todos os conhecimentos transmitidos.

A Coimbra, a cidade eterna do estudante, que me ensinou tradições, o valor da saudade e me proporcionou momentos únicos que irei sempre recordar.

Índice

Parte I - Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

LISTA DE ABREVIATURAS	7
1. INTRODUÇÃO	8
2. ANÁLISE SWOT	9
2.1. Pontos Fortes	9
2.1.1. Localização da Farmácia.....	9
2.1.2. Equipa Técnica e Interajuda	10
2.1.3. Organização da Farmácia.....	10
2.1.4. Planificação do Programa de Estágio.....	10
2.2. Pontos Fracos	11
2.2.1. Nervosismo e receios	11
2.2.2. Aconselhamento na Dermocosmética, Puericultura e Veterinária.....	12
2.3. Oportunidades	12
2.3.1. Laboratório de Manipulados	12
2.3.2. Grande Dimensão e variedade de produtos.....	12
2.3.3. Ações de Formação	13
2.3.4. Medicamentos Homeopáticos.....	13
2.4. Ameaças.....	14
2.4.1. Desvalorização dos Medicamentos	14
2.4.2. Afluência da Farmácia.....	14
3. ACONSELHAMENTO FARMACÊUTICO	14
3.1. Caso Clínico 1	14
3.2. Caso Clínico 2.....	15
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	16
5. BIBLIOGRAFIA	17

Parte II - A influência do Microbiota Intestinal na fisiopatologia da Obesidade e Diabetes *Mellitus* tipo 2

LISTA DE ABREVIATURAS	19
RESUMO	21
ABSTRACT	22
I. INTRODUÇÃO	23

1.1. Microbiota: o que é e quais as funções biológicas.....	23
1.1.1. Composição do Microbiota Intestinal	23
1.1.2. Fatores que modulam a composição microbiana.....	24
1.1.3. Funções do Microbiota Intestinal	26
1.2. Interações inter-reino (microbiota e hospedeiro).....	27
1.3. Exemplos de doenças onde o microbiota se encontra alterado	28
1.4. Técnicas de estudo.....	29
2. OBESIDADE	29
2.1. Fisiopatologia e epidemiologia.....	29
2.2. Microbiota Intestinal e Obesidade.....	31
2.2.1. Perfil microbiano nos obesos	31
2.2.2. Regulação do armazenamento de gorduras pelo microbiota.....	32
2.2.3. AGCC e a Obesidade	34
3. DIABETES MELLITUS TIPO 2.....	35
3.1. Fisiopatologia e epidemiologia.....	35
3.2. Microbiota e DMT2	36
3.2.1. Flora intestinal na Diabetes tipo 2.....	36
3.2.2. Endotoxemia metabólica	37
3.2.3. PYY e GLP-I	38
4. OPORTUNIDADES TERAPÊUTICAS	39
4.1. Prebióticos e Probióticos na Modulação do Microbiota Intestinal	39
4.2. Transplante Fecal.....	40
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	42
6. BIBLIOGRAFIA.....	43

Parte I

Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária

LISTA DE ABREVIATURAS

FFS - Farmácia Ferreira da Silva

FFUC - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM - Medicamentos não sujeitos a receita médica

MSRM - Medicamentos sujeitos a receita médica

SWOT - *Strenghts, Weaknesses, Opportunities e Threats*

I. INTRODUÇÃO

“O farmacêutico deve em todas as circunstâncias, mesmo fora do exercício da sua actividade profissional, proceder de modo a prestigiar o bom nome e a dignidade da profissão farmacêutica.”¹

A profissão de Farmacêutico visa o bem-estar da sociedade demonstrando um grande relevo na área da saúde, tendo como missão fornecer a todos um acesso a um tratamento com qualidade, eficácia e segurança. O plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), foi pensado de forma a proporcionar aos seus alunos a melhor formação académica para se tornarem nos melhores farmacêuticos do futuro. O Farmacêutico é um profissional de saúde que está presente em distintas áreas, desde o contacto direto com o utente em Farmácia Comunitária, como também na investigação e desenvolvimento de novas terapêuticas na Indústria Farmacêutica.

No segundo semestre do 5º ano do curso MICF os alunos realizam um estágio curricular em Farmácia Comunitária com o objetivo de terem o primeiro contacto com o utente, de forma a se consciencializar da verdadeira essência da profissão, colocar em prática os conhecimentos adquiridos, consolidando-os e aprofundando-os, com o intuito de enriquecer a sua formação.

Ao longo do meu estágio curricular, no desempenho das minhas funções, tive sempre consciência da minha responsabilidade na orientação adequada sobre a terapêutica, de forma a proporcionar ao utente informação que o conduzisse a uma utilização segura, eficaz e racional dos medicamentos. Sempre contei com o apoio, os conhecimentos e a experiência de toda a equipa técnica perante qualquer obstáculo ou situação clínica atípica, facultando-me informações adequadas ao melhor procedimento a ter na situação em questão. Todas essas vivências contribuíram para um ampliar de conhecimentos/faculdades que me serão muito úteis na minha futura profissão.

2. ANÁLISE SWOT

O presente relatório de estágio foi desenvolvido segundo uma análise **SWOT** (**Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats**), realçando os pontos fortes e os pontos fracos do meu estágio curricular, refletindo sobre as oportunidades e fraquezas que foram surgindo ao longo do mesmo.

Tabela I- Quadro resumo da Análise SWOT

Pontos Fortes Localização da Farmácia Equipa Técnica e Interajuda Organização da Farmácia Planificação do Estágio Curricular	Pontos Fracos Nervosismo e Receios Aconselhamento na Dermocosmética, Puericultuta e Veterinária
Oportunidades Laboratório de Manipulados Grande dimensão e variedade de produtos Ações de formação Medicamentos Homeopáticos	Ameaças Desvalorização dos Medicamentos Afluência da Farmácia

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Localização da Farmácia

A Farmácia Ferreira da Silva (FFS) localiza-se na cidade do Porto, numa das maiores áreas comerciais do norte do país – NorteShopping - por isso um ponto de passagem diário para um elevado número de pessoas. O perfil da FFS pesou na minha decisão em realizar o meu Estágio Curricular nesta farmácia, pois esta escolha possibilitar-me-ia um público-alvo diversificado, havendo uma maior possibilidade de conhecer e contatar com situações atípicas e raras, fornecendo-me uma aprendizagem contínua e completa, contribuindo para o meu desenvolvimento como futura profissional de saúde.

2.1.2. Equipa Técnica e Interajuda

A equipa técnica da FFS, a cargo da Diretora Técnica Dra. Susana Matos, é constituída por um elevado número de pessoas. Cada elemento tem obrigações/competências específicas próprias de uma farmácia para além do atendimento ao público (conferência do receituário, realização de encomendas). Apesar da constituição numerosa, a dinâmica e o espírito de trabalho em equipa facilitou a minha integração na mesma desde o primeiro dia. Ao longo de meu estágio, senti sempre apoio e disponibilidade constante de toda a equipa para me esclarecer qualquer dúvida, dando-me autoconfiança nos primeiros atendimentos. Tenho plena consciência de que a postura dos vários profissionais foi um bom exemplo a seguir no meu futuro profissional.

2.1.3. Organização da Farmácia

Ao longo do último ano, a farmácia tem sofrido alterações na sua organização. Sobre a orientação da Engenheira Mariana Araújo, implementou-se o sistema Kaizen, uma vez mais com o intuito de proporcionar ao cliente um serviço de qualidade. O sistema Kaizen teve origem no Japão após a II Guerra Mundial, sendo uma metodologia de melhoria contínua. A sua implementação, em farmácias comunitárias, tem vindo a crescer nos últimos anos, havendo uma melhor gestão da farmácia possibilitando fornecer a melhor resposta às necessidades do utente.

Uma boa organização na farmácia facilitou-me na orientação pelo espaço, possibilitando-me, desde o início, o rápido acesso aos produtos. De igual forma, a disposição, facultou-me uma imediata perceção dos produtos que a farmácia dispõe para as diversas situações.

2.1.4. Planificação do Programa de Estágio

O meu estágio na FFS ficou a cargo da Dra. Filomena Almeida. Inicialmente mostrou-me as instalações, deu-me informações sobre o funcionamento da farmácia, salientando que o principal lema é “O cliente é rei” e que as funções de um farmacêutico estão muito para além da dispensa de medicamentos.

Inicialmente comecei por realizar tarefas de *back-office* sendo o meu primeiro contato com os medicamentos e toda a variedade de produtos disponíveis nesta farmácia. Uma vez que a FFS é de grandes dimensões, a minha participação na arrumação permitiu-me entender rapidamente a organização da mesma, ficando a conhecer a ampla variedade de produtos disponíveis ao público.

Posteriormente, comecei por acompanhar os atendimentos dos colaboradores com o objetivo de me apropriar da postura adequada de um farmacêutico perante o utente, a fim de se criar uma empatia natural que possibilite a transmissão clara, concisa e compreensível de toda a informação, conduzindo assim a uma satisfação do utente e a uma consciencialização mais elevada, por parte daquele, na utilização dos produtos de saúde. Simultaneamente, fui observando e assimilando a funcionalidade do sistema operativo, ambientando-me para que, quando iniciasse atendimentos individualmente, não surgissem dúvidas.

Quando comecei a realizar atendimentos autonomamente, senti que foi um ponto fundamental no meu estágio, a partir do qual pude pôr em prática toda uma aprendizagem de cinco anos.

Neste estágio, tive a oportunidade de experienciar as várias vertentes na dinâmica de uma farmácia com orientações que me foram proporcionando mais competências, gerando evolução na minha autoconfiança, conduzindo assim a um desempenho mais eficiente e assertivo. Considero que a planificação de estágios na FFS está bem estruturada de forma a acompanhar o estagiário em todo o processo, nunca o colocando em situações desagradáveis, permitindo o aprofundamento e a aplicação de conhecimentos teóricos já adquiridos.

2.2. Pontes Fracos

2.2.1. Nervosismo e receios

Durante os primeiros aconselhamentos, senti ansiedade e receio de errar o que me provocava alguma insegurança na dispensa de medicamentos e no aconselhamento dos mesmos. Essa ansiedade era devido também à preocupação sobre possíveis descontos que poderiam haver na farmácia, aplicação de planos de comparticipação complementares ou questionamento por parte do cliente sobre produtos. Outra dificuldade sentida era identificar os produtos pedidos pelos utentes, porque muitas vezes o próprio não pronunciava corretamente o nome do fármaco. Da minha parte havia pouco conhecimento de nomes comerciais e nem sempre os associava imediatamente aos princípios ativos. Tudo isto fazia com que a ocorrência do atendimento se tornasse mais demorada e alguns clientes revelavam impaciência e pouca compreensão a toda situação.

2.2.2. Aconselhamento na Dermocosmética, Puericultura e Veterinária

A FFS dispõe de uma extensa variedade de produtos existentes no mercado para diversas áreas como a Dermocosmética, Puericultura e Veterinária. Apesar de fazerem parte do plano de estudos do MICEF, unidades curriculares como Dermofarmácia e Cosmética e Preparações de Uso Veterinário, considero que os conteúdos programados e abordados nas mesmas deveriam sofrer alterações, adaptando-se mais a um contexto real de farmácia comunitária, proporcionando assim, aos alunos ferramentas e capacidades que serão úteis para solucionar situações atípicas fora da área terapêutica medicamentosa.

Defrontei-me, inicialmente, com pouca capacidade de resposta nestas áreas tendo dificuldade em proporcionar um aconselhamento indicado e completo. Ao me consciencializar desta minha fraqueza empenhei-me para a ultrapassar, por isso estive sempre disponível para participar nas formações que ocorriam na farmácia e preocupei-me em aprofundar os meus saberes técnicos realizando pesquisas ou recorrendo ao auxílio da equipa técnica da farmácia.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Laboratório de Manipulados

A FFS possui, nas suas instalações, um laboratório permitindo dispor de um serviço de preparação e dispensa de medicamentos manipulados aos seus clientes, o que nem todas as farmácias, nos dias de hoje, conseguem proporcionar.

A profissão farmacêutica é uma profissão com muitos anos de tradição, onde a preparação de manipulados sempre fez parte das suas inúmeras responsabilidades.² Levando em grande consideração este aspeto, na FFS foi-me transmitido o valor do farmacêutico nesta vertente e como tal houve sempre preocupação, por parte da equipa, em me integrar na preparação dos manipulados requisitados na farmácia. Como referi anteriormente, este serviço hoje em dia não é suportável por todas as farmácias, por isso considero uma oportunidade singular que me permitiu desenvolver competências complementares, que numa farmácia com a inexistência deste serviço seria impossível.

2.3.2. Grande Dimensão e variedade de produtos

Como já referi, a FFS é uma farmácia de grandes dimensões o que lhe permite possuir uma elevada variedade de produtos nas mais variadas áreas de saúde. Apesar de ter considerado como ponto fraco o meu insuficiente conhecimento inicial sobre os produtos,

esta particularidade da farmácia possibilitou-me conhecer diversas opções a que posso recorrer futuramente durante os meus atendimentos nas mais diversas situações.

2.3.3. Ações de Formação

De acordo com o Código Deontológico dos Farmacêuticos, Artigo 12º “...o farmacêutico deve manter actualizadas as suas capacidades técnicas e científicas para melhorar e aperfeiçoar constantemente a sua actividade, por forma que possa desempenhar conscientemente as suas obrigações profissionais perante a sociedade.”. ¹A direção técnica da FFS tinha muito presente a importância da constante atualização das competências dos seus profissionais e para tal proporcionava a toda a equipa técnica formações frequentes e específicas em áreas como a dermocosmética, suplementação e veterinária, como também sobre medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM). Estas formações foram momentos de aprendizagem importantes onde nos eram apresentadas e explicadas as características dos produtos, referindo o seu público-alvo e aconselhamentos sobre a sua adequada utilização.

Acredito que a possibilidade de realizar diversas formações na FFS permitiu-me alargar os meus conhecimentos nas mais variadas áreas, possibilitando-me esclarecer questões/dúvidas que me surgiam durante o estágio. Desta forma adquiri aptidões gerais e específicas que serão uma mais-valia futuramente.

2.3.4. Medicamentos Homeopáticos

A Homeopatia é uma terapêutica desenvolvida pelo médico alemão Samuel Hahnemann que se baseia no Princípio de Similitude e no Princípio da Infinitesimalidade. Apesar de ter mais de 200 anos de história, ainda é restrito o conhecimento geral acerca desta terapêutica alternativa.³

Durante a minha formação académica, a homeopatia foi um tema pouco abordado, havendo um parco conhecimento e diminuta compreensão sobre esta terapêutica que cada vez mais tem sido uma alternativa à medicina tradicional.

Nesta farmácia, deparei-me com uma variedade considerável de produtos homeopáticos e uma correspondente procura dos mesmos. Desta forma, e com a ajuda da Dra. Filomena Almeida, pude ampliar os meus conhecimentos nesta área terapêutica pouco aprofundada academicamente. Sempre que achei adequado elucidei os utentes para esta opção de tratamento, uma vez que é uma alternativa segura para grupos de risco, como as grávidas, crianças e pessoas polimedicados.

2.4. Ameaças

2.4.1. Desvalorização dos Medicamentos

Neste estágio, tive uma maior percepção do valor do papel do farmacêutico na terapêutica, uma vez que é o último profissional de saúde em contacto com o utente antes de iniciar a mesma, sendo o seu envolvimento fulcral para uma adequada adesão à terapêutica. Constatei que, a nível da população em geral, a importância que os mesmos dão aos medicamentos é desvalorizada, sendo muitas vezes distorcida. Recorrentemente, havia solicitação de medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) em que esta provinha de aconselhamento de amigos ou do seu uso anteriormente. Tive o cuidado em ouvir o utente e as suas preocupações, informei-o das razões pela qual certos medicamentos necessitam de receita médica e adverti-o para possíveis efeitos secundários e perigos devido a um inadequado uso do medicamento.

2.4.2. Afluência da Farmácia

Considero que um dos pontos fortes do meu estágio é a localização da farmácia, uma vez que esta permite contactar com as mais diversas situações num amplo público. Por outro lado, o grande movimento diário da farmácia conseguiu ser uma ameaça no início do estágio. A dispensa de medicamentos e aconselhamento terapêutico são processos complexos que exigem da parte do farmacêutico uma sensibilidade e capacidade de resposta compatível com o utente. Inicialmente, para um estagiário, a insegurança aliada a atenção extra na utilização do *software*, faz com que o atendimento seja mais demorado, criando-me um desconforto por não acompanhar o ritmo normal da FFS.

3. ACONSELHAMENTO FARMACÊUTICO

3.1. Caso Clínico I

Um senhor de 60 anos dirigiu-se a farmácia pedindo um medicamento para a diarreia, quando o questionei sobre o início desta, se tinha febre ou dores abdominais, se tomava alguma medicação e se tinha viajado nos últimos dias, o senhor disse que o medicamento não é para si, mas sim para a sua neta de 5 anos.

Seguidamente, abordei o senhor dando a entender que medicamentos para parar a diarreia, como a loperamida, não são recomendáveis para crianças, e que frequentemente nas

crianças a diarreia é de origem viral. Deste modo, referi a importância de uma ingestão frequente de líquidos de modo a não ocorrer desidratação por parte da menina. Recomendei também o Bi-Oral Suero, um suplemento alimentar que além de reidratar, tem na sua composição probióticos que irão ajudar a restabelecer a flora intestinal, que em casos de diarreia, está debilitada. Alertei o senhor que em caso de sinais de alerta, como sangue nas fezes, febre e vômitos, aconselhei a dirigir-se ao hospital.

3.2. Caso Clínico 2

Uma jovem de 25 anos dirigiu-se a farmácia a pedir algo para a tosse que já vinha a sentir há uma semana, salientando por fim que estava grávida de um mês. Seguidamente questionei sobre o tipo de tosse, se era uma tosse seca e irritativa ou uma tosse produtiva, a qual ela me respondeu que tinha expetoração tendo dificuldades em liberta-la. Questionei também se já tinha tomado algum medicamento para a tosse e se tinha problemas de saúde, a qual recebi uma resposta negativa.

Tendo em consideração a sua situação, optei por recomendar um medicamento homeopático pela sua segurança na gravidez não havendo efeitos secundários ou risco de interações. Desta forma, aconselhei a cliente o unitário Ipecacuanha 9CH , 5 grânulos três vezes por dia. Relembrei-a para beber muitos líquidos ao longo do dia de forma a facilitar a libertação da expetoração. Visto que era uma tosse persistente, recomendei a jovem a ficar atenta a sinais de alerta como tosse com sangue, falta de ar ou dificuldade em respirar e febre, e caso não sentisse melhorias deveria deslocar-se ao médico.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio é uma unidade curricular a realizar pelos estudantes no último semestre do 5º ano, pertencente a um plano de estudos, que visa proporcionar além de capacidades técnico-científicas, a vivência real no mundo da saúde pública,

Salvaguardando o bom nome da profissão farmacêutica, devemos prestar um serviço de qualidade objetivando uma sociedade mais consciente. Ao longo do meu estágio curricular, testemunhei a relevância do farmacêutico como profissional de saúde, verificando que a farmácia é um espaço de extrema importância e de auxílio para a comunidade. Em função disso, a minha relação com o utente pautou-se sempre por prestar informação rigorosa tendo presente o cuidado de ir ao encontro da situação do doente e da saúde pública.

Considero que a realização do estágio curricular na FFS tornou-se fundamental para o culminar da minha formação como farmacêutica, estabelecendo a ligação para o mundo profissional através da consolidação e implementação de conhecimentos, aquisição de aprendizagens que só são possíveis em contexto real e a interiorização de aptidões profissionais.

A minha gratidão a toda a equipa técnica que me soube acolher e integrar na mesma, orientando-me em momentos de dúvidas ou *stress*, transmitindo-me conhecimentos e valores que prezo e que me serão muito pertinentes no desempenho futuro da minha profissão.

5. BIBLIOGRAFIA

1. Ordem dos Farmacêuticos. Portal da Ordem dos Farmacêuticos - regulamentos. *Código Deontológico da Ordem dos Farm.* (1995). https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/codigo_deontologico_da_of_4436676175988472c14020.pdf
2. Ordem dos Farmacêuticos. Norma específica sobre manipulação de medicamentos. (2018),1-9.
3. Direção Geral de Saúde. Propostas da Terapêutica - Homeopatia. (2003).

Parte II

A influência do Microbiota Intestinal na fisiopatologia da Obesidade e Diabetes *Mellitus* tipo 2

LISTA DE ABREVIATURAS

AGCC - Ácidos gordos de cadeia curta

AMPK - Proteína quinase ativada por AMP

AMPK-P - Proteína quinase ativada por AMP fosforilada

ATP - Adenosina trifosfato

DMT 1 - Diabetes *Mellitus* tipo 1

DMT 2 - Diabetes *Mellitus* do tipo 2

FFAR - *Free fat acids receptor*

Fiaf - *Fasting-induced adipose factor*

GF - *Germ-free*

GLP-1 - Glucagon-like peptide-1

ICD - Infecção por *Clostridium difficile*

IMC - Índice de Massa Corporal

iNOS - Enzima óxido nítrico sintetase indutível

IRS-1 - Substrato do recetor de insulina

Kg - Quilogramas

LPL - Lipoproteína lípase

LPS - Lipopolissacarídeo S

m - Metros

MD-2 - Fator de diferenciação mieloide 2

NA - Noradrenalina

pO₂ - Pressão parcial de oxigénio

PYY - Peptídeo YY

RSNO - Nitrosotíóis

SNE - Sistema nervoso entérico

TG - Triglicerídeos

TGI - Trato Gastrointestinal

TLR-4 - Recetor Toll Like 4

TMA - Trimetilamina

TMA-liase - Enzima trimetilamina-liase

TMAO - N-óxido de trimetilamina

VLDL - Lipoproteínas de muito baixa densidade

WGO - *World Gastroenterology Organisation*

RESUMO

O microbiota intestinal engloba todos os microrganismos que colonizam o trato gastrointestinal apresentando uma relação simbiótica com o hospedeiro. É considerada como uma comunidade diversificada e dinâmica que possui um envolvimento crucial em diferentes vias metabólicas, contribuindo para o desenvolvimento e maturação do sistema imunitário e apresentando uma participação fulcral na digestão. Portanto, o crescente interesse em estudar a diversidade microbiana advém da necessidade de um maior conhecimento e caracterização desta complexa comunidade.

Nos últimos anos, vários estudos evidenciaram o importante papel do microbiota intestinal no hospedeiro sugerindo que poderá ter implicações na saúde quando ocorre uma instabilidade na relação microflora-hospedeiro.

Obesidade e diabetes são duas patologias que globalmente afetam milhões de pessoas, cujo seu desenvolvimento é influenciado por diversos fatores como dieta, genética e estilo de vida.

Esta monografia tem como objetivo debater-se sobre o papel da microbiota intestinal, como um possível fator condicionante na fisiopatologia da obesidade e diabetes. Segundo vários dados da literatura, alterações na composição microbiana podem afetar significativamente os mecanismos homeostáticos intestinais, e conseqüentemente, promover o aparecimento destas condições metabólicas. Desta forma, a modulação do microbiota intestinal pode constituir uma alternativa terapêutica interessante e promissora.

Palavras-Chave: Microbiota Intestinal, Obesidade, Diabetes, Dieta, AGCC, Hospedeiro.

ABSTRACT

The Intestinal Microbiota comprehends all the microorganisms that colonize the gastrointestinal tract developing a symbiotic relationship with the host. It can also be considered as a diverse and dynamic community that has a crucial involvement in different metabolic pathways, contributing to the development and maturation of the immune system and having a key role in digestion. Therefore, the growing interest in studying microbial diversity comes from the need of getting a better understanding, greater knowledge and characterization of this complex community.

In recent years, several studies have proved the important role of the intestinal microbiota in the host, suggesting that it may have health implications when instability in the microflora-host relationship occurs.

Obesity and Diabetes are two conditions that globally affect millions of people, whose development is influenced by many factors such as diet, genetics and lifestyle.

This dissertation have the main purpose of debate the role of the intestinal microbiota as a possible conditioning factor in the pathophysiology of Obesity and Diabetes. According to several information from the literature, changes in microbial composition can significantly affect intestinal homeostatic mechanisms, and consequently promote the appearance of these metabolic conditions. Contemplating this, the modulation of the intestinal microbiota may be an interesting and promising therapeutic alternative.

Keywords: Intestinal Microbiota, Obesity, Diabetes, Diet, AGCC, Host.

I. INTRODUÇÃO

I.1. Microbiota: o que é e quais as funções biológicas

A comunidade científica tem mostrado recentemente um maior interesse sobre o Microbiota Humano, e na importância na saúde e doença humanas. O microbiota é um ecossistema complexo e dinâmico constituído por mais de 3 triliões de microrganismos que coexistem no corpo humano numa relação simbiótica.^{1,2,3} Cerca de 70% desses microrganismos localizam-se apenas no colon apresentando assim este órgão a maior diversidade microbiana.⁴ O Trato Gastrointestinal (TGI) além de uma extensa área de superfície apresenta também uma grande disponibilidade e variedade de nutrientes que beneficiam tornam este local ideal para a colonização.⁴

I.1.1. Composição do Microbiota Intestinal

O Microbiota intestinal apresenta uma enorme diversidade na sua composição que inclui três domínios principais (*Archaea*, *Bacteria* e *Eucarya*), tendo já sido descritos mais de 50 Filos Bacterianos.^{1,4,5} É maioritariamente composto por quatro Filos (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* e *Proteobacteria*), porém os Filos *Firmicutes* (bactérias Gram-positivas) e *Bacteroidetes* (bactérias Gram-negativas) encontram-se em maior número representando 90% do microbiota.²⁻⁷

A densidade e composição microbiana não é homogénea, apresentando grande variedade ao longo do TGI devido a vários fatores tais como pH, gradiente de oxigénio, disponibilidade e nutrientes e péptidos antimicrobianos, como podemos comprovar na figura 1.^{1,3-5} Por exemplo, em comparação com o cólon, o intestino delgado apresenta uma maior acidez, maior pressão parcial de oxigénio (pO_2) e de agentes antimicrobianos. Assim sendo, o intestino delgado é dominado pelas Famílias *Lactobacillaceae* e *Enterobacteriaceae*, enquanto o cólon é essencialmente constituído por espécies das Famílias *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*, *Rikenellaceae*, *Lachnospiraceae* e *Ruminococcaceae*.¹⁵ Além heterogeneidade ao longo do intestino existe também uma diferença significativa entre o epitélio e o lúmen intestinal na sua composição.^{4,5,7}

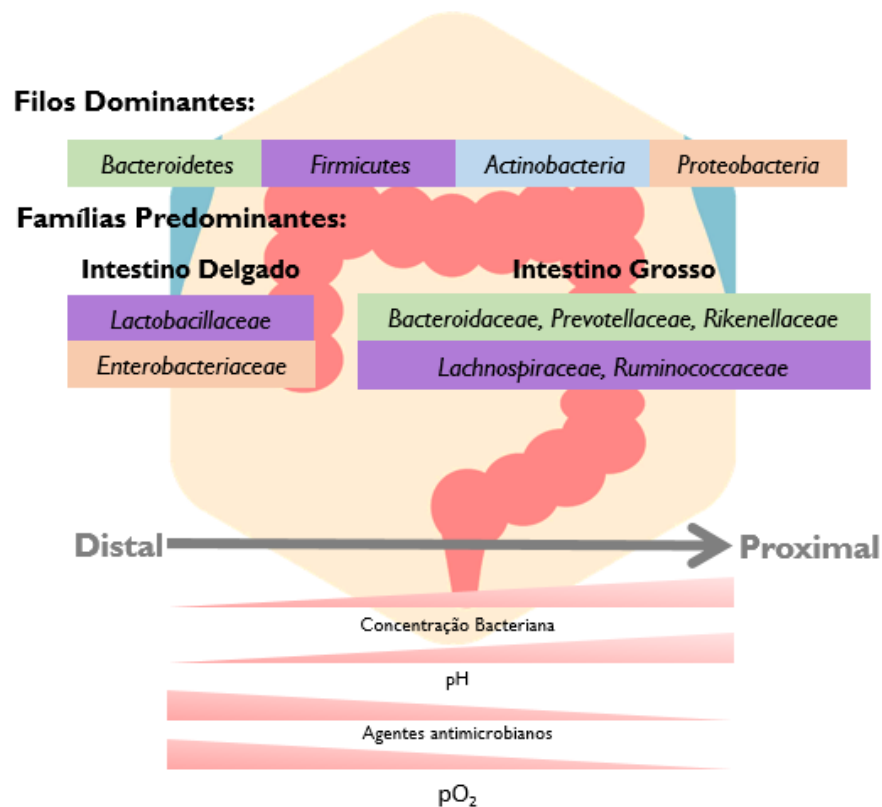


Figura I- Composição microbiana ao longo do trato gastrointestinal. (Adaptada de Gregory P. DONALDSON *et al.*, 2015).

1.1.2. Fatores que modulam a composição microbiana

São diversos os fatores que interferem com o início da colonização e desenvolvimento microbiano intestinal. São de referir fatores genéticos, dieta da mãe, modo do parto e o tipo de alimentação nos primeiros meses de vida, ou seja, se é à base de leite materno ou de leite fórmula.^{2,5,7,8} A colonização inicia-se logo durante a gravidez, deste modo a dieta da progenitora durante este período irá ter influência sobre o microbiota intestinal da criança.^{4,5,9}

O tipo de parto é considerado um fator determinante para um desenvolvimento de um microbiota intestinal saudável.^{2,4} Uma criança que nasça de parto natural apresenta uma elevada abundância de *Lactobacilli*, um reflexo da composição da flora vaginal. Já nas crianças que nascem de cesariana, a composição microbiana é essencialmente composta por anaeróbios facultativos, como por exemplo espécies de *Clostridium*.⁸ Verifica-se que crianças nascidas de cesarina têm uma maior probabilidade de virem a desenvolver doenças alérgicas devido à insuficiência de bactérias como *Lactobacillus* e *Bifidobacteria* na composição da flora intestinal.⁸

Do mesmo modo, alimentação com base em leite materno ou em leite de fórmula irá influenciar também a diversidade do microbiota. Estudos indicam que *Bifidobacteria* spp. estão em maior proporção em recém-nascidos alimentados a partir do leite materno, enquanto que recém-nascidos alimentados com leite de fórmula apresentam elevados níveis de *Bacteroides* spp. e *Lactobacillus* spp.^{2,5,9,10}

Ao nascimento a diversidade microbiana é muito reduzida, desenvolvendo-se durante os primeiros anos de vida até se atingir um microbiota intestinal adulto considerado estável aos 3 anos de vida.⁹ Contudo, 30-40% do microbiota poderá sofrer alterações ao longo do tempo devido a fatores como a dieta, uso de antibióticos e estilo de vida.^{2,9} Considera-se a dieta o principal condicionante na evolução e modificação da diversidade microbiana ao longo da vida.^{2,5} Por exemplo, a dieta contribui cerca de 57% para a variação da composição do microbiota, enquanto a genética apenas 12%.² A influência da dieta na comunidade microbiana tem sido demonstrada em diversos estudos, por exemplo, a mudança de uma dieta rica em fibras vegetais e pobre em gorduras para uma dieta rica em gorduras e açúcares (dieta do tipo ocidental), aumenta a percentagem de *Clostridium* e diminui significativamente a percentagem de *Bacteroidetes*.⁷ Na Tabela I, podemos verificar o impacto que diferentes dietas têm sobre a composição microbiana alterando as proporções de diferentes bactérias.²

Tabela I - O efeito de diferentes dietas na composição do microbiota intestinal. (Adaptada de Othman A. BAOTHMAN *et al.*, 2016).

Tipo de Dieta	Efeito na Diversidade Microbiana
Dieta Rica em Gordura	Diminuição de géneros pertencentes à classe <i>Clostridia</i> no íleo e aumento de <i>Bacteroidales</i> no intestino grosso Aumento de <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp., and <i>Enterococcus</i> spp. Diminuição <i>Clostridium leptum</i> e <i>Enterobacter</i> spp. Aumento da proporção de <i>Firmicutes</i> para <i>Bacteroidetes</i> Aumento de <i>Bacteroidales</i> , <i>Clostridiales</i> e <i>Enterobacteriales</i>
Dieta Vegetariana	Diminuição de <i>Acteroides</i> spp., <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Escherichia coli</i> e <i>Enterobacteriaceae</i> spp. Diminuição de <i>Enterobacteriaceae</i> e aumento de <i>Bacteroides</i> Aumento de <i>Bacteroidetes</i> e diminuição de <i>Firmicutes</i>
Dieta com restrição calórica	Diminuição da proporção de <i>Firmicutes</i> para <i>Bacteroidetes</i>

1.1.3. Funções do Microbiota Intestinal

Uma das principais funções do microbiota intestinal é a sua participação na digestão, contribuindo para um aumento na sua eficiência.¹¹ Por exemplo, o perfil enzimático humano não consegue digerir certas fibras dietéticas, sendo necessária a presença de bactérias que, através das suas próprias enzimas, digerem compostos que, de outro modo, os humanos não poderiam decompor.^{10,12,13}

A partir da fermentação de fibras não-digeríveis, há a obtenção de ácidos gordos de cadeia curta (AGCC) que rapidamente são absorvidos pelas células epiteliais do TGI ligando-se a recetores acoplados a proteína G (FFAR2 e FFAR3). Desta ligação, resulta a modulação de diversos processos metabólicos tais como lipogénese e gliconeogénese.^{1,3,11} A expressão dos recetores de ácidos gordos livres (*free fat acids receptor*, FFAR) é diferente de acordo com os tipos de células. Os recetores FFAR 2 localizam-se maioritariamente em células imunes e células enteroendócrinas, e os recetores FFAR 3 em adipócitos e também em células enteroendócrinas.^{3,14}

No intestino humano, os AGCC predominantes são butirato, acetato e propionato, exercendo diversas funções no organismo. Existem estudos que reconhecem o seu

envolvimento na regulação do peso corporal, homeostasia da glucose e sensibilidade à insulina.⁷ O butirato, maioritariamente sintetizado por bactérias do Filo *Firmicutes*, tem uma atividade anti-inflamatória e anticancerígena, e é a principal fonte de energia para os colonócitos.¹⁰ Além disso, modula o apetite através da libertação de *Glucagon-like peptide-1* (GLP-1) e o peptídeo YY (PYY) pelas células enteroendócrinas. Bactérias do Filo *Bacteroidetes* produzem essencialmente acetato e do proprionato que, depois de serem absorvidos, são transportados até os hepatócitos para serem utilizados na gliconeogénese e lipogénese.^{3,7,10}

Além do seu envolvimento em proporcionar nutrientes indispensáveis ao hospedeiro, o microbiota intestinal contribui na proteção contra agentes patogénicos, manutenção da integridade da mucosa epitelial e imuno-modelação.^{1,4,10,11} Uma boa comunicação entre o sistema imunitário do hospedeiro e a comunidade microbiana presente no intestino é de extrema importância, uma vez que o hospedeiro tem de ser capaz de tolerar os organismos comensais benéficos e limitar o crescimento e expansão dos patogénicos.^{11,15}

A função de proteção baseia-se em vários mecanismos, entre os quais a competição do microbiota comensal com os patogénicos por nutrientes e na produção por parte do hospedeiro e do microbiota, de moléculas com ação antibacteriana como defensinas, lectinas do tipo c e catelicidinas, funcionando em conjunto como uma barreira física.⁴ Há igualmente produção de muco constituído maioritariamente por glicoproteínas, para que não haja um contato direto entre o epitélio intestinal e os microorganismos.¹⁵

1.2. Interações inter-reino (microbiota e hospedeiro)

A interação bidirecional entre os microrganismos da flora intestinal e as células do hospedeiro considera-se indispensável e simbiótica. Os microrganismos do lúmen intestinal e os enterócitos apresentam uma estreita relação, onde qualquer desequilíbrio microbiano (disbiose) poderá causar disfunções no hospedeiro, podendo ser crucial no desenvolvimento de doenças.¹⁶ Deste modo, é essencial a comunicação fisiológica entre o microbiota intestinal e o hospedeiro na preservação da relação simbiótica entre os dois. São vários os mecanismos que asseguram esta comunicação, nomeadamente através da produção de micro-RNA ou hormonas.^{16,17}

A comunicação hormonal está presente em diversos mecanismos, principalmente naqueles envolvidos em interações patogénicas. As hormonas proteicas, como por exemplo insulina, glucagon e fator de crescimento epidérmico, não atravessam a membrana celular, tendo que se ligar a recetores presentes na superfície celular; já as hormonas esteroides,

atravessam a membrana conduzindo a uma comunicação por ligação a recetores intracelulares.¹⁷ As catecolaminas adrenalina e noradrenalina (NA) são exemplos de hormonas produzidas pelo hospedeiro que podem ligar-se a recetores nas células bacterianas, desencadeando efeitos tais como expressão de toxinas, virulência, *uptake* de ferro.¹⁷ A NA é sintetizada pelo sistema nervoso entérico (SNE) apresentando elevados níveis de concentração no intestino. Estudos recentes afirmam que ao interagir com o patogénico *Escherichia coli* induz o seu crescimento e a expressão de fimbrias e toxinas.¹⁷

As interações entre o microbiota intestinal e o hospedeiro recorrendo ao micro-RNA são por três maneiras: micro-RNAs regulam a expressão genética do hospedeiro; o microbiota influencia a expressão de micro-RNA do hospedeiro; ou o hospedeiro influencia o microbiota pela libertação de micro-RNAs.¹⁶

1.3. Exemplos de doenças onde o microbiota se encontra alterado

Com o interesse crescente em estudar a complexidade do ecossistema microbiano intestinal, tem-se conseguido demonstrar que o seu equilíbrio é fundamental na homeostase do organismo humano. Já são muitos os estudos que demonstraram o envolvimento do microbiota no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes, entre outras.¹⁸ Destaca-se a infeção por *Clostridium difficile* (ICD) como um bom exemplo de uma doença associada a alterações microbianas, tendo já sido demonstrado resultados promissores na utilização de transplante fecal como prevenção de ICD recorrente.¹¹

Tal como mencionado anteriormente, o microbiota intestinal consegue metabolizar diversos compostos a partir da dieta que terão não só um impacto fisiológico, mas também no desenvolvimento de algumas patologias. Por exemplo, através de uma dieta rica em carnes vermelhas e ovos, o microbiota metaboliza a colina, um composto que está envolvido no metabolismo lipídico no fígado. O gene CutC presente em bactérias comensais humanas e patogénicas codificam a enzima trimetilamina-liase (TMA-liase) que converte colina em trimetilamina (TMA). No fígado, ocorre oxidação da TMA originando a N-óxido de trimetilamina (TMAO). Elevados níveis sanguíneos de TMAO estão relacionados com a maior probabilidade de desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares.¹¹ Tal como a ICD, este exemplo reforça a ideia de que a composição do microbiota se relaciona com o bem-estar do hospedeiro por diversas vias, podendo influenciar prevalência de inúmeras doenças.^{12,19,20}

A obesidade e a diabetes figuram também como exemplos paradigmáticos do envolvimento do microbiota intestinal no desenvolvimento de patologias multiorgânicas.^{1,2}

Estudos revelam baixa diversidade microbiana em indivíduos com excesso de peso ou obesos, relacionando-se à inflamação, adiposidade e resistência à insulina.^{1,21}

1.4. Técnicas de estudo

A compreensão da diversidade, composição e dinâmica do microbiota com o hospedeiro tem aumentado nos últimos anos devido ao melhoramento e desenvolvimento de novas técnicas de estudo. Diferentes métodos como análise de culturas, sequenciação (Full-length 16 rRNA sequencing, Pyrosequencing), métodos *Fingerprinting* de DNA e *microarrays* de DNA apresentam diferentes vantagens e limitações que se deve ter em conta na hora da sua escolha.^{4,22}

Inicialmente, recorria-se a técnicas de isolamento de culturas para se analisar o microbiota intestinal, no entanto grande parte das bactérias do intestino humano são anaeróbicas o que dificultava ou mesmo impossibilitava o seu isolamento. Com efeito apenas 10 a 25% do microbiota podia ser identificado. Além disso, eram técnicas demorosas, o que desencoraja a sua aplicação no laboratório.^{4,15}

Com o intuito de obter mais informações acerca da diversidade microbiana, desenvolveram-se métodos que recorrem ao gene 16S do RNA ribossomal bacteriano como marcador, permitindo obter um perfil bacteriano rápido.^{4,11} O gene 16S do RNA ribossomal apresenta tamanho reduzido e regiões conservadas genéticas como hipervariáveis, o que permite distinguir entre diferentes espécies e identificar membros do mesmo grupo filogenético. Estas são características fundamentais para a sua escolha como marcador genético bacteriano.⁴

A metagenómica é das mais recentes ferramentas de estudo da comunidade bacteriana do intestino, possibilitando um alargamento no conhecimento acerca deste complexo ecossistema. É um método vantajoso pois fornece informações do genoma coletivo da flora intestinal, não havendo sequenciação apenas de genes específicos.⁴ Uma análise metagenómica, além de permitir uma distinção taxonómica, proporciona informações acerca da contribuição funcional do microbiota intestinal na relação complexa que mantem com o hospedeiro.⁴

2. OBESIDADE

2.1. Fisiopatologia e epidemiologia

Nas últimas duas décadas, tem-se observado um aumento considerável na prevalência da obesidade por todo mundo afetando mais de 500 milhões de pessoas.^{3,13,23} Em Portugal,

segundo o Inquérito Alimentar Nacional e Atividade Física realizado em 2015, 38,9% da população portuguesa apresentava excesso de peso e, 28,7% eram já considerada obesa.²⁴ A obesidade é uma doença metabólica caracterizada por um desequilíbrio entre ingestão calórica e o consumo energético, levando a uma acumulação de gordura corporal.^{3,13} Fatores genéticos, idade, dietas modernas ricas em gorduras e estilo de vida sedentário contribuem para o aumento ponderal.^{3,13,24}

O Índice de Massa Corporal (IMC) é uma medida de referência internacional que relaciona o peso corporal em quilogramas (kg) com a altura em metros (m), permitindo uma avaliação rápida e prática sobre situações de excesso de peso e obesidade. Atualmente, um indivíduo que apresente um IMC entre 25 e 29,9 tem excesso de peso, e acima dos 30 é considerado obeso. (Tabela 2) Contudo, este indicador apresenta limitações e não deve ser utilizado isolado para um diagnóstico de obesidade.^{13,25}

Tabela 2 - Índice de Massa Corporal.

Classificação	IMC
Baixo Peso	<18
Peso Normal	18.5 – 24.9
Excesso de Peso	25 – 29,9
Obesidade	≥30
Obesidade Classe I (Moderada)	30 – 34,9
Obesidade Classe II (Severa)	35 – 39,9
Obesidade Classe III (Mórbida)	>40

Atualmente, a patogénese da obesidade é ainda pouco compreendida visto que esta envolve diversos e complexos processos fisiológicos. Por esta razão, são gastos anualmente milhares de euros na investigação desta patologia e na descoberta de novas terapêuticas eficientes. Diversas investigações demonstram que a leptina é uma hormona adipocitária envolvida nos mecanismos de desenvolvimento da obesidade, uma vez que atua no hipotálamo regulando o apetite e armazenamento de gordura.^{25,26} Uma deficiência desta hormona provoca um aumento da necessidade da ingestão de alimentos, podendo culminar em situações de

excesso de peso ou obesidade. Porém, indivíduos obesos apresentam, contra intuitivamente, concentrações excessivas de leptina, possivelmente devido a uma resistência a esta hormona.²⁶

A obesidade desencadeia várias mudanças no nosso organismo provocando desequilíbrios metabólicos e hormonais, considerando-se um fator de risco para o desenvolvimento de diversas patologias como a diabetes, doenças cardiovasculares, gastrointestinais, músculo-esqueléticas e alguns tipos de cancro.^{1,3,13,27}

2.2. Microbiota Intestinal e Obesidade

Como referido anteriormente, o microbiota intestinal modula vias metabólicas essenciais ao normal funcionamento do organismo, nomeadamente a homeostase energética. Sendo a obesidade uma doença relacionada com desequilíbrios metabólicos, há um grande interesse em estudar a relação do microbiota intestinal na predisposição para esta patologia.¹

Os primeiros estudos realizados para observar a relação entre o microbiota intestinal e a obesidade foram conduzidos em ratinhos *germ-free* (GF) transplantados com o microbiota de ratinhos convencionais. Após colonização, a gordura corporal dos ratinhos GF aumentou 60% em duas semanas, observando-se alterações na resistência à insulina, na morfologia dos adipócitos e aumento nas concentrações de leptina e glucose. Comprovou-se que ratinhos GF necessitam de um aumento em 30% na ingestão calórica em comparação com os ratinhos convencionais de forma a manter o seu peso corporal.³ Estes dados sugerem um envolvimento do microbiota na regulação do armazenamento de gordura e, por conseguinte, o seu envolvimento na obesidade.³

2.2.1. Perfil microbiano nos obesos

O rápido aumento da prevalência da obesidade que observou-se nos últimos anos mostra que o fator genético não é o principal fator que contribui para o desenvolvimento desta patologia. Modificações na dieta e a prática reduzida de exercício físico têm sido considerados primordiais para a maior incidência global desta patologia.

Comparando a alimentação dos nossos antepassados com aquela que atualmente é praticada pela maioria da população mundial, conclui-se que ocorreram drásticas mudanças ao longo dos últimos anos. De uma dieta rica em vegetais, frutas e cereais, passou-se para uma dieta rica em hidratos de carbono refinados, gorduras, carnes vermelhas ou processadas e pobre em fibras. Esta drástica mudança teve um enorme impacto no organismo humano contribuindo para uma maior prevalência de doenças metabólicas.

Tal como mencionado anteriormente, a dieta é o principal fator responsável por alterações do microbiota intestinal. Tendo a flora intestinal um importante envolvimento em processos metabólicos, gerou-se a hipótese de que uma vez que a dieta altera o microbiota intestinal, iria influenciar também processos metabólicos no hospedeiro e, assim desencadear o aparecimento de doenças como a obesidade.

Efetivamente, comparando ratinhos obesos e magros demonstraram-se diferenças na composição microbiana, observando-se uma diminuição em 50% na proporção de *Bacteroidetes* e um aumento de *Firmicutes* no grupo constituído por ratinhos obesos.^{2,3,20} Do mesmo modo, há estudos que não demonstraram qualquer alteração na razão *Firmicutes/Bacteroidetes* e que este não pode ser considerado um biomarcador da obesidade.¹⁻³ Também verificou-se que diferentes géneros encontravam-se aumentados ou diminuídos em indivíduos obesos, como é o caso de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.³ No entanto, espécies pertencentes ao mesmo género poderão ser associadas a obesidade enquanto outras não, nomeadamente o género *Lactobacillus* que em indivíduos obesos está em maiores proporções, contudo não se verifica esta tendência em todas as espécies pertencentes a este género.^{3,5} Estes resultados aparentemente contraditórios demonstram a necessidade de mais estudos com o intuito de tentar estabelecer uma relação entre determinados grupos de bactérias e o desenvolvimento de excesso de peso e obesidade.

Além de associações entre diferentes proporções na comunidade microbiana, a presença de patogénicos oportunistas também pode estar associada a uma maior predisposição para excesso de peso. Um exemplo é a estirpe B29 da *Enterobacter cloacae* que, num indivíduo obeso, representa 35% do microbiota. Após modificações dietéticas e conseqüentemente perda de peso, esta estirpe passou a estar indetetável no microbiota.^{3,5}

2.2.2. Regulação do armazenamento de gorduras pelo microbiota

A grande parte das terapêuticas estipuladas para combater a obesidade passam pela restrição calórica. Hábitos alimentares inadequados, onde a ingestão calórica é superior ao gasto energético diário, conduz a um aumento de peso corporal causado pelo armazenamento do excesso de gorduras.²⁷ Fredrik BACKHED *et al.* refere que a ausência de microbiota intestinal proporciona um mecanismo de proteção contra a obesidade induzida pela alimentação ao demonstrar que ratinhos GF pouco alteravam o seu peso corporal consoante diferentes dietas.²⁸

Ratinhos convencionais alimentados à base de uma dieta do tipo ocidental têm um maior aumento de peso corporal em relação aos GF, contudo não há alterações significativas entre

ratinhos GF seguindo uma dieta do tipo ocidental ou uma dieta rica em polissacarídeos e pobre em gordura.²⁸

Relacionou-se a resistência ao aumento de peso por parte dos ratinhos GF à ausência da supressão do *fasting-induced adipose factor* (fiaf) pelo microbiota. O fiaf é uma proteína sintetizada no intestino, fígado e tecido adiposo que apresenta uma ação inibitória sobre a Lipoproteína lípase (LPL). A LPL é uma lipoproteína que participa no metabolismo e transporte lipídico, hidrolisando triglicerídeos (TG) presentes nos quilomicrons e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) (Figura 2).²⁸

A supressão microbiana sobre o inibidor da LPL permite uma maior atividade da LPL nos adipócitos, estimulando o armazenamento de TG no tecido adiposo. Estudos com ratinhos GF com ausência de fiaf e ratinhos GF selvagens demonstram que o mecanismo inibitório por parte do fiaf permite ao microbiota intestinal regular o armazenamento de gordura. Supôs-se que a resistência à obesidade em ratos GF selvagens se deve a uma maior expressão do fiaf devido à ausência do microbiota. De facto, ratinhos GF com ausência de fiaf demonstraram um maior aumento de peso corporal comparativamente aos ratos GF tipo selvagem.²⁸

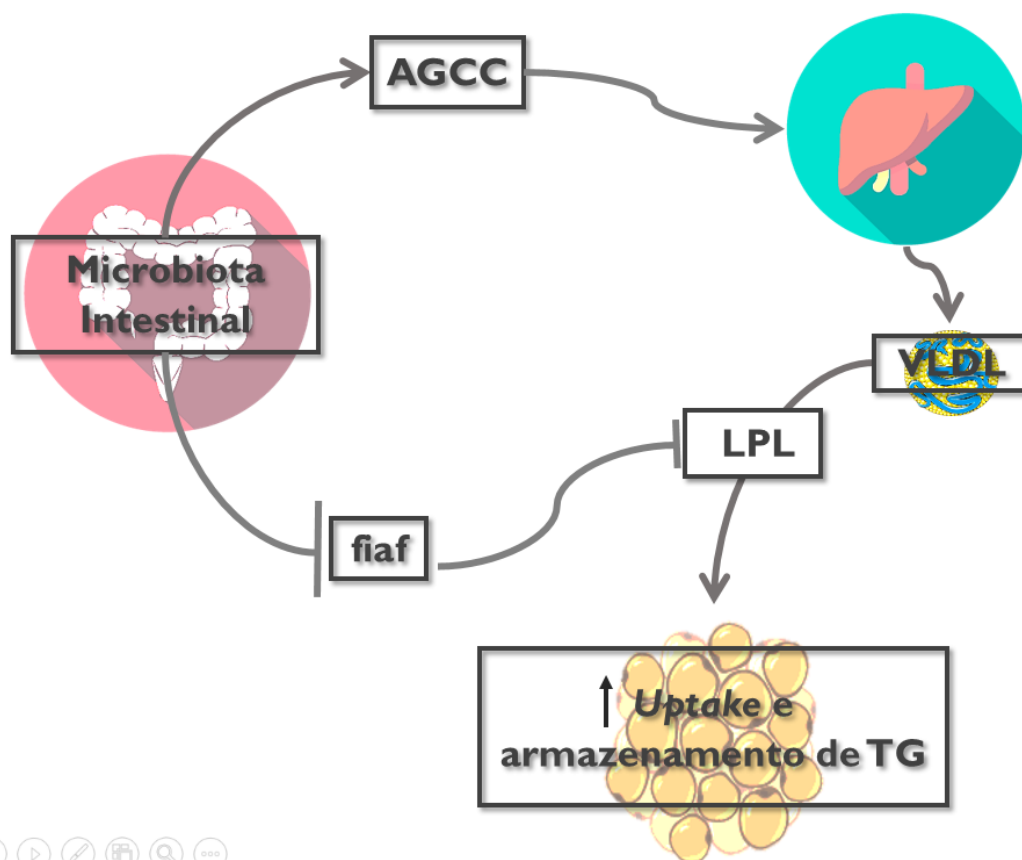


Figura 2- Intervenção do microbiota intestinal sobre a regulação do armazenamento de TG. (Adaptada de Patrice D. CANI e Nathalie M. DELZENNE, 2011)

Outros estudos, também com ratinhos GF e convencionais, têm contribuído para elucidar os mecanismos moleculares que permitem estabelecer uma relação entre obesidade e o microbiota intestinal. Assim, compararam-se os valores da proteína quinase ativada por AMP (AMPK) nos músculos gastrocnêmios de forma a saber-se se há o seu envolvimento na resistência a obesidade.

Os níveis de AMPK eram semelhantes entre ratinhos GF e convencionais. Porém, ratinhos GF apresentam maiores níveis de AMPK-P que estimula a oxidação de ácidos gordos nos tecidos periféricos através da fosforilação da acetilCoA carboxilase. Como a acetilCoA carboxilase converte acetilCoA em malonilCoA, há uma diminuição na concentração de malonil que iria inibir Cpt-I, enzima que catalisa a etapa limitadora da entrada de AGCC nas mitocôndrias.²⁸ Portanto, esta diferença dos níveis de AMPK-P entre ratinhos GF e convencionais sugerem que a proteção contra a obesidade induzida pela dieta deve-se também a uma maior atividade de AMPK-P.²⁸

2.2.3. AGCC e a Obesidade

Como mencionado anteriormente, os AGCC produzidos pela fermentação microbiana exercem diferentes ações no metabolismo, com impacto benéfico sobre o peso corporal, homeostase da glicose e sensibilidade à insulina.⁴² Estudos demonstram efetivamente que os AGCC desempenham uma ação de proteção contra a obesidade induzida pela dieta.^{2,29}

O autor Hua V. LIN *et al.* para comprovar este efeito utilizou ratinhos magros expostos a uma dieta rica em gorduras suplementada com butirato, acetato e propionato. Ao longo de quatro semanas, o grupo controlo aumentou o peso corporal como esperado (40%). Nos ratinhos suplementados com butirato e propionato não houve alterações no peso corporal, porém os suplementados com acetato o aumento de peso foi de 20%.²⁹ Observou-se uma diminuição de ingestão de comida nos ratinhos suplementados com butirato e propionato, relacionando-se a manutenção do peso corporal com a ação reguladora do apetite por parte do butirato e propionato. Visto não se verificar mudanças de ingestão de comida ou na atividade locomotora, sugere-se que a diferença no aumento de peso em comparação com o grupo controlo nos ratinhos suplementados com acetato é devido a uma aumento da taxa metabólica ou diminuição na eficácia de absorção.²⁹

Além disso, comparando os níveis cecal e fecal de AGCC entre indivíduos obesos e magros, observou-se uma maior percentagem destes metabolitos nas amostras de indivíduos obesos.^{2,30} A diferença verificada poderá dever-se a uma maior produção de AGCC e a um

défice na absorção por parte dos colonócitos, ou o microbiota obeso está associado a espécies bacterianas que recorrem menos a AGCC como fonte de energia.¹⁸

3. DIABETES MELLITUS TIPO 2

3.1. Fisiopatologia e epidemiologia

A nível mundial, 415 milhões de pessoas estão diagnosticadas com diabetes, dos quais 90% são Diabetes *Mellitus* do tipo 2 (DMT 2) considerando-se um dos maiores problemas mundial de saúde.³¹ Da mesma maneira que ao longo dos últimos anos a prevalência global da obesidade aumentou drasticamente, a incidência da DMT 2 pela população mundial teve igualmente um aumento exponencial. As modificações no estilo de vida e tipo de dieta figuram entre as principais razões para o aumento da incidência de doenças metabólicas como a obesidade e diabetes.³¹

Contrariamente a Diabetes *Mellitus* tipo 1 (DMT 1), em que ocorre um decréscimo na produção da insulina como resultado de uma falência pancreática por processos autoimunes, na DMT 2 há um desenvolvimento de resistência periférica à insulina compensada por aumento de produção de insulina.^{31,32} A DMT 2 é uma patologia associada a elevados valores de glicose no sangue (hiperglicémia) causados por uma insulinoresistência. A insulina é uma hormona produzida pelas células β pancreáticas, responsável pela regulação dos níveis de glicémia consoante há um aumento após refeições ou diminuição, em períodos pós-prandiais. Ao ligar-se aos seus recetores na membrana plasmática das células-alvo, há passagem da glicose do sangue para dentro da célula para esta ser convertida em energia (ATP).³²

Além da predisposição genética, fatores ambientais como um estilo de vida sedentário ou com o tipo de dieta estão relacionados com o desenvolvimento de DMT 2. Com efeito, cerca de 60% dos doentes com DMT 2 são obesos.³¹ Demonstrou-se efetivamente que a obesidade favorece o desenvolvimento de DMT 2, uma vez que diminui a sensibilidade à insulina no tecido adiposo, fígado e músculo-esquelético, e conseqüentemente ocorrendo uma alteração da função das células β pancreáticas.¹

Tal como existem evidências que demonstram uma relação entre o aparecimento da obesidade e alterações na comunidade microbiana intestinal, há estudos que revelam que a disbiose também contribui para o desenvolvimento da DMT 2.¹ Um exemplo é o aumento significativo da tolerância à glicose, com a colonização significativa por *Bifidobacterium*.³³

3.2. Microbiota e DMT2

3.2.1. Flora intestinal na Diabetes tipo 2

Como foi referido anteriormente, a dieta tem uma grande influência na flora intestinal, de modo que um regime alimentar rico em gordura estabelece modificações específicas e significativas na composição e, conseqüentemente, o desenvolvimento de distúrbios metabólicos. Também já aqui foi abordado que a maior mudança na composição microbiota, seguindo uma dieta rica em gordura, é na proporção dos dois maiores Filos constituintes do microbiota, *Bacteroidetes* e *Firmicutes*. Segundo alguns autores, o perfil microbiano de indivíduos obesos apresentam uma maior percentagem de bactérias *Firmicutes* e menor de *Bacteroidetes*.^{2,3,20} Nadja LARSEN *et al.* refere que a composição microbiana em indivíduos diabéticos difere dos não-diabéticos, sendo maioritariamente constituída pelos Filos *Bacteroidetes* e *Proteobacteria*, ocorrendo uma diminuição na proporção dos *Firmicutes*. (Figura 3) Com esta desconcordância, Nadja LARSEN assume que a obesidade e a diabetes estão associadas a diferentes comunidades microbianas.^{1,33}

A desproporção da composição descrita por estes autores pode-se relacionar com os níveis elevados de lipopolissacarídeo S (LPS) que os diabéticos apresentam, uma vez que *Bacteroidetes* e *Proteobacteria* são bactérias gram-negativas.^{1,33}

No perfil microbiano de indivíduos diabéticos, observou-se também variação na presença de bactérias produtoras de butirato, *Roseburia intestinalis* e *Faecalibacterium prausnitzii*, estando em menor número nos indivíduos diabéticos comparativamente ao grupo controlo. Do mesmo modo, os diabéticos apresentam uma maior percentagem de *Lactobacillus spp.*^{1,20}

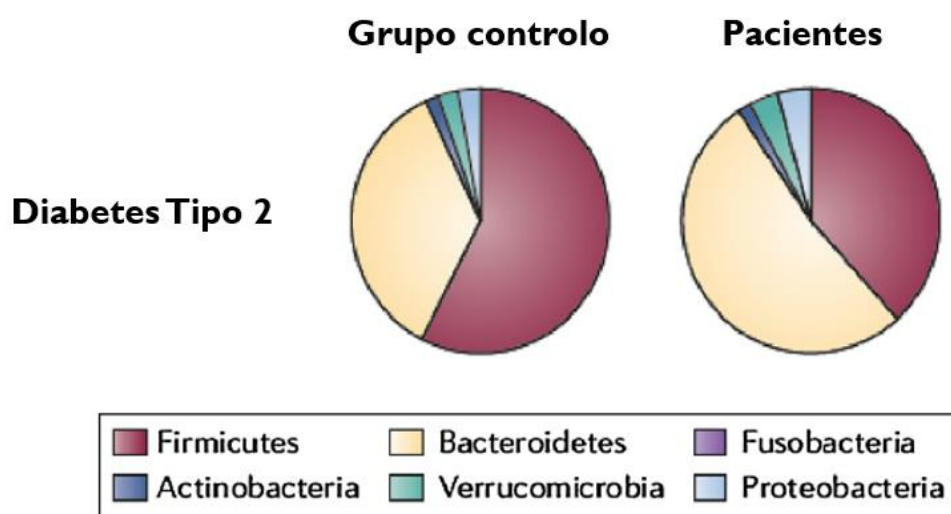


Figura 3- Microbiota Intestinal de indivíduos saudáveis e de pacientes com DMT 2. (Adaptada de Hubert E. BLUM, 2017).

3.2.2. Endotoxemia metabólica

A obesidade e a DMT 2 são duas patologias caracterizadas por um baixo grau de inflamação, podendo ter início no microbiota intestinal.¹ Uma dieta rica em gordura provoca alterações microbianas que poderão desencadear disfunções, como por exemplo processos inflamatórios.³⁴

O epitélio intestinal funciona como uma barreira física essencial para a manutenção dos níveis inflamatórios constitutivos da mucosa, evitando a translocação de toxinas e bactérias patogénicas. Estudos sugerem que a permeabilidade intestinal poderá ser destabilizada por uma dieta hiperlipídica devido a alterações que esta induz na comunidade microbiana.^{20,34} Uma elevação dos níveis de LPS no plasma, designada endotoxemia metabólica, resulta de um aumento da permeabilidade intestinal com conseqüente absorção desta molécula pró-inflamatória para a circulação sistémica (Figura 4).^{20,34}

Patrice D. CANI e colaboradores referem que o LPS é uma endotoxina determinante para o desenvolvimento de distúrbios metabólicos pelo seu envolvimento na cascata de inflamação ao estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias.^{2,34,35} Estes autores demonstraram que uma infusão crónica de LPS leva a uma insulinoresistência, sendo o fígado o primeiro órgão a ser afetado.³⁴ O recetor *Toll Like 4* (TLR-4) associado ao seu co-receptor do fator de diferenciação mieloide 2 (MD-2) constitui um local de ligação da endotoxina LPS. Após a ligação do LPS há um aumento da produção de óxido nítrico devido a um aumento da expressão da enzima óxido nítrico sintetase indutível (iNOS). O óxido nítrico, ao interagir com resíduos de cisteína, induz a sua nitrosação, formando nitrosotióis (RSNO), que por sua vez, fosforila o substrato do recetor de insulina (IRS-1) inibindo o sinal de transdução da insulina provocando, assim, insulinoresistência.³⁶

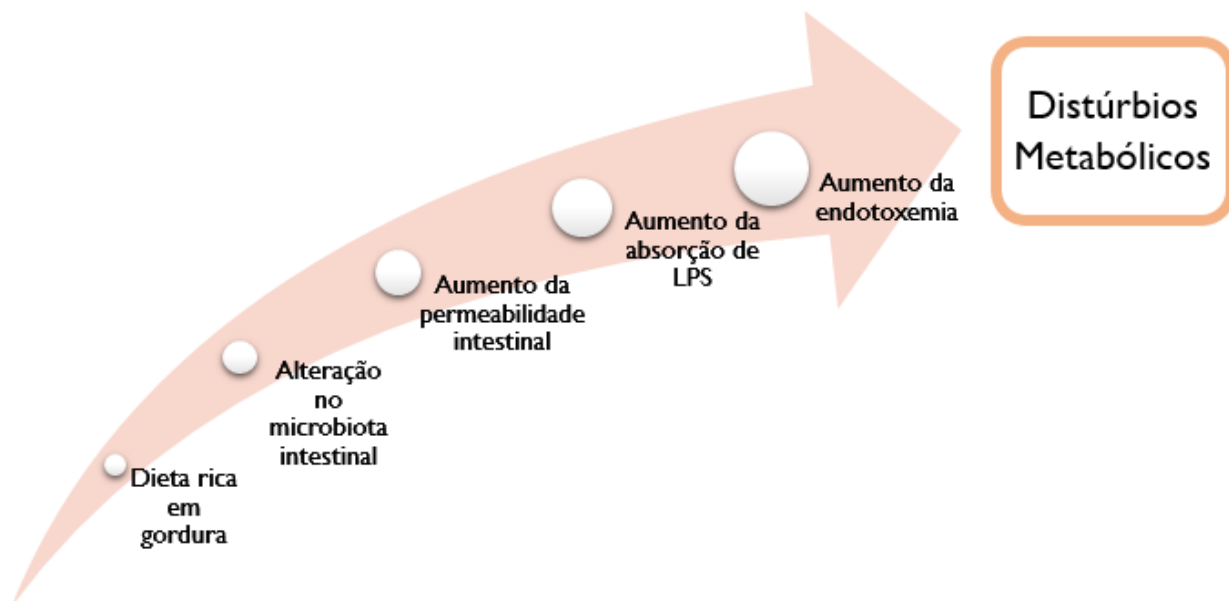


Figura 4 - Endotoxemia Metabólica. (Adaptada de Patrice D. CANI *et al.*, 2008).

3.2.3. PYY e GLP-I

Os AGCC obtidos pela fermentação também apresentam ações reguladoras no metabolismo da glicose. Através da ligação aos recetores FFAR 2/3, estes induzem a produção de PYY e GLP-I nos colonócitos.^{1,2} O PYY irá conduzir ao aumento da captação da glucose no tecido adiposo e músculo, enquanto o GLP-I irá atuar no pâncreas, estimulando a produção de insulina e diminuindo a libertação de glucagon (Figura 5).³⁷

Os AGCC também influenciam o metabolismo da glicose ao atuarem na gliconeogénese hepática aumentando a fosforilação AMPK (Figura 5). Esta ação de controlo dos AGCC sobre a glicémia é sugerida por estudos onde a administração oral de acetato e propionato reduz a glicémia em ratinhos diabéticos.³⁷ Contudo, demonstrou-se que em diabéticos o número de bactérias produtoras de AGCC é reduzido.³⁸

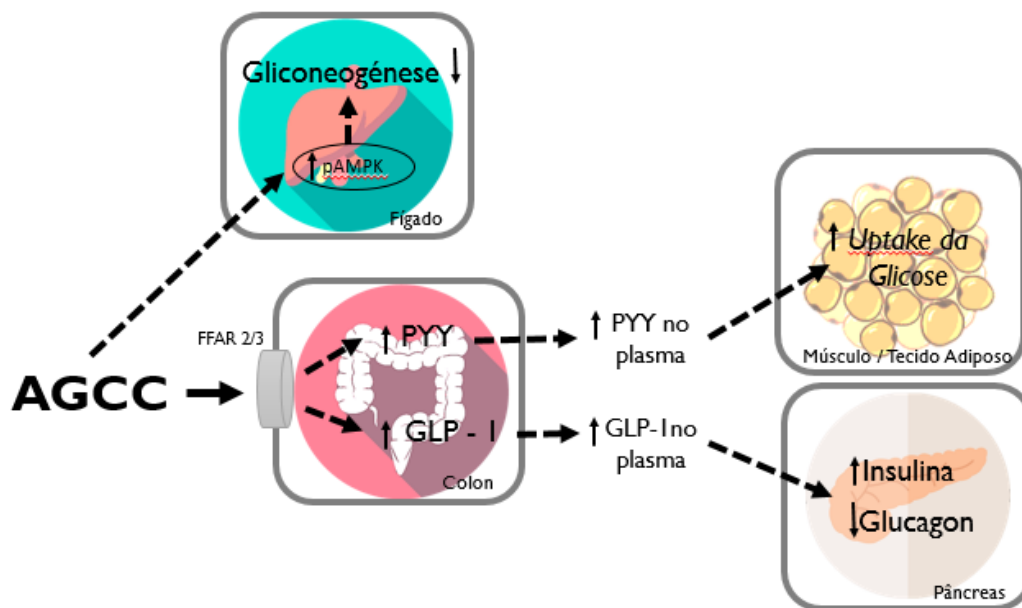


Figura 5 – Regulação do microbiota intestinal sobre a glicémia. (Adaptada de Gijs den BESTEN *et al.*, 2013).

4. OPORTUNIDADES TERAPÊUTICAS

A etiologia multifatorial da obesidade dificulta o alcance de uma terapêutica eficaz sem que ocorra futuramente ganho do peso perdido. A orientação nutricional, associada à prática de exercício físico, é suficiente para o tratamento da maioria dos casos de obesidade contudo, em certos casos é necessário recorrer a terapêutica farmacológica, ou até mesmo a cirurgia, em casos de obesidade mórbida.

Com a pesquisa que se tem realizado para um maior entendimento sobre o microbiota intestinal, desde a sua composição até ao seu envolvimento nos diversos sistemas do nosso organismo, levantou-se a hipótese de modulação microbiana intestinal como uma futura terapêutica. Identificando-se estirpes bacterianas com potencial na regulação metabólica, a utilização de pré e probióticos poderá vir a ser um tratamento eficiente na obesidade.²¹ Efetivamente, demonstrou-se que a modulação do microbiota intestinal utilizando prebióticos fez aumentar as concentrações de GLP-1 que conseqüentemente alterou a ingestão de comida observando-se uma diminuição no peso corporal e na massa gorda.¹

4.1. Prebióticos e Probióticos na Modulação do Microbiota Intestinal

Segundo a *World Gastroenterology Organisation* (WGO), probióticos são “microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades apropriadas, conferem benefício à saúde do

hospedeiro”, enquanto os prebióticos são “ingredientes seletivamente fermentados que permitem modificações específicas na composição e/ou atividade da flora intestinal, conferindo assim benefícios à saúde do hospedeiro”.³⁹

O *Bifidobacterium pseudocatenulatum* é uma bactéria com propriedades anti-inflamatórias conhecidas, podendo ser benéfica a sua utilização como probiótico para modificar o microbiota intestinal em indivíduos obesos e diabéticos. Verificou-se uma diminuição do estado inflamatório no tecido adiposo ao administrar-se esta estirpe bacteriana, uma vez que a passagem de LPS para a corrente sanguínea diminuiu com o melhoramento da integridade da barreira intestinal.^{40,41} Espécies do género *Lactobacillus* demonstraram efeitos benéficos no peso corporal e no estado inflamatório quando administrados a ratinhos obesos.^{3,41,42}

A *Akkermansia muciniphilia* é uma bactéria muito presente no microbiota intestinal (3-5%), com funções na regulação no armazenamento de gordura, manutenção da permeabilidade intestinal e metabolismo da glicose. Contudo, em indivíduos obesos e diabéticos há uma redução considerável no seu número. Demonstrou-se que administração de prebióticos de oligofruktose promove o crescimento desta bactéria, verificando-se um aumento na sua abundância.^{21,42,43} Da mesma forma, a utilização do prebiótico inulina promove a proliferação de *Faecalibacterium prausnitzii*, uma bactéria que também apresenta ação benéfica sobre a obesidade e diabetes.⁴⁴

Modificações microbianas recorrendo à utilização de prebióticos, como a inulina, com o objetivo específico de promover a fermentação bacteriana, e consequentemente aumentar a concentração de AGCC, poderá ser um mecanismo promissor no controlo do apetite uma vez que regula a produção de PYY e GLP-1.^{41,44}

A modulação da diversidade microbiana recorrendo a prebióticos e probióticos, durante 4-23 semanas, demonstrou ter efeitos benéficos no crescimento de bactérias verificando-se uma diminuição na endotoxemia metabólica, melhoramento da permeabilidade intestinal, aumento na sensibilidade à insulina e redução na lipólise.⁴¹

4.2. Transplante Fecal

O transplante do microbiota fecal já tem vindo a ser utilizado no tratamento de doenças gastrointestinais, como por exemplo em situações graves de ICD. Estando a taxa de sucesso desta intervenção terapêutica acima dos 80%, a perspetiva de utilização do transplante fecal para uso terapêutico de outras doenças associadas à disbiose tem sido ponderada e estudada.^{3,21,45} Com efeito, o transplante do microbiota fecal de dadores magros para pacientes

com síndrome metabólica demonstrou aumentar a sensibilidade periférica para a insulina em 6 semanas, porém sem alterações no peso corporal.^{3,21}

No sentido de recorrer ao transplante fecal como opção terapêutica é necessário ainda desenvolver estudos que demonstrem a sua viabilidade clínica, sendo ainda preciso uma padronização do todo o procedimento²¹

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Toda a complexidade por detrás da comunidade microbiana dificulta a identificação e caracterização de um microbiota saudável, visto que diversos fatores como idade, genética, dieta e estilo de vida influenciam a sua composição. O avanço tecnológico permitiu adquirir informações mais pormenorizadas sobre o microbiota intestinal, contudo ainda é necessário a continuação da realização de estudos que possibilitem um entendimento mais claro da comunicação do microbiota com o hospedeiro.

A transferência do microbiota intestinal de ratinhos convencionais para GF comprova a interligação da presença microbiana com o peso corporal, demonstrando que este tem ação reguladora sobre o armazenamento de gordura. A dieta é um fator preponderante sobre a flora microbiana, considerando-se também como um aspeto fundamental na patogénese da obesidade. Desta forma, alterações na composição intestinal consoante a dieta, poderá favorecer a predisposição para o desenvolvimento da obesidade.

A obesidade e DMT 2 são patologias caracterizadas por um baixo grau de inflamação, que poderá ter origem na elevação dos níveis plasmáticos de LPS desencadeando um processo inflamatório. LPS é um constituinte membranar de bactérias gram-negativas, podendo justificar este aumento plasmático por variações nas proporções destas bactérias.

Constata-se que ainda não existe uma concordância no perfil microbiano obeso, tal como no perfil de indivíduos com DMT 2. Portanto, primordialmente, deve-se direccionar os estudos para uma análise da composição microbiana para se identificar estirpes bacterianas como possíveis biomarcadores da obesidade e diabetes. Igualmente, uma identificação de grupos bacterianos com ações benéficas sobre a regulação do metabolismo lipídico e da glicose permitirá uma melhor abordagem terapêutica por parte dos prebióticos, probióticos e transplante microbiano fecal.

6. BIBLIOGRAFIA

1. OMRUM AYDIN, MAX NIEUWDORP VG. - **The Gut Microbiome as a target for the treatment of type 2 Diabetes**. Springer. 55 (2018).
2. BAOTHMAN OA, ZAMZAMI MA, TAHER I, ABUBAKER J, ABU-FARHA M. - **The role of Gut Microbiota in the development of obesity and Diabetes**. Lipids Health Dis. 15 (2016), 1-8.
3. GÉRARD P. - **Gut microbiota and obesity**. Cell Mol Life Sci. 73 (2016), 147-162.
4. YAMASHIRO Y. - **Gut Microbiota in Health and Disease**. Ann Nutr Metab. 71 (2018), 242-246.
5. DONALDSON GP, LEE SM, MAZMANIAN SK. - **Gut biogeography of the bacterial microbiota**. Nat Rev Microbiol. 14 (2015), 20-32.
6. GRAHAM C, MULLEN A, WHELAN K. - **Obesity and the gastrointestinal microbiota: A review of associations and mechanisms**. Nutr Rev. 73 (2015), 376-385.
7. C. MILANI, C. FERRARIO, F. TURRONI, S. DURANTI, M. MANGIFESTA, D. VAN SINDEREN, M. VENTURA - **The human gut microbiota and its interactive connections to diet**. J Hum Nutr Diet. 29 (2016), 539-546.
8. BIASUCCI G, RUBINI M, RIBONI S, MORELLI L, BESSI E, RETETANGOS C. **Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut**. Early Hum Dev. 86 (2010), 13-15.
9. KASHTANOVA DA, POPENKO AS, TKACHEVA ON, TYAKHT AB, ALEXEEV DG, BOYTSOV SA. - **Association between the gut microbiota and diet: Fetal life, early childhood, and further life**. Nutrition. 32 (2016), 620-627. doi:10.1016/j.nut.2015.12.037
10. THURSBY E, JUGE N. - **Introduction to the human gut microbiota**. Biochem J. 474 (2017), 1823-1836.
11. SHREINER A.B., KAO J.Y. AND YVB. - **The gut microbiome in health and in disease**. Curr Opin Gastroenterol. 31 (2016), 69-75.
12. SHEN TCD. - **Diet and Gut Microbiota in Health and Disease**. Nestle Nutr Inst Workshop Ser. 88 (2017), 117-126.
13. MATHUR R, BARLOW GM. - **Obesity and the microbiome**. Expert Rev Gastroenterol Hepatol. 9 (2015), 1-13.
14. KAJI I, KARAKI SI, KUWAHARA A. - **Short-chain fatty acid receptor and its contribution to glucagon-like peptide-I release**. Digestion. 89 (2014), 31-36.

15. JANDHYALA SM, TALUKDAR R, SUBRAMANYAM C, VUYYURU H, SASIKALA M, REDDY DN. - **Role of the normal gut microbiota.** World J Gastroenterol. 21(2015), 8836-8847.
16. WILLIAMS MR, STEDTFELD RD, TIEDJE JM, HASHSHAM SA. - **MicroRNAs-based inter-domain communication between the host and members of the gut microbiome.** Front Microbiol. 8 (2017), 1-10.
17. HUGHES DT, SPERANDIO V. - **Inter-kingdom signalling: Communication between bacteria and their hosts.** Nat Rev Microbiol. 6 (2008), 111-120.
18. FERNANDES J, SU W, RAHAT-ROZENBLOOM S, WOLEVER TMS, COMELLI EM. - **Adiposity, gut microbiota and faecal short chain fatty acids are linked in adult humans.** Nutr Diabetes. 4 (2014), 1-7.
19. BLUM HE. - **The human microbiome.** Adv Med Sci. 62 (2017), 414-420.
20. MIELE L, GIORGIO V, ALBERELLI MA, DE CANDIA E, GASBARRINI A, GRIECO A. - **Impact of Gut Microbiota on Obesity, Diabetes, and Cardiovascular Disease Risk.** Curr Cardiol Rep. 17 (2015).
21. DAO MC, CLÉMENT K. - **Gut microbiota and obesity: Concepts relevant to clinical care.** Eur J Intern Med. 48 (2018), 18-24.
22. PAUL B. ECKBURG, ELISABETH M. BIK, CHARLES N. BERNSTEIN, ELIZABETH PURDOM, LES DETHLEFSEN, MICHAEL SARGENT, STEVEN R. GILL, KAREN E. NELSON AND DAVID A. RELMAN - **Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora.** Science. 308 (2005), 1635-1638.
23. BOYD A SWINBURN, GARY SACKS, KEVIN D HALL, KLIM MCPHERSON, DIANE T FINEGOOD, MARJORY L MOODIE, STEVEN L GORTMAKER - **The global obesity pandemic: Shaped by global drivers and local environments.** Lancet. 378 (2011), 804-814.
24. VÂNIA GAIO, LILIANA ANTUNES, MARTA BARRETO, ANA GIL, IRINA KISLAYA, SÓNIA NAMORADO, ANA PAULA RODRIGUES, ANA SANTOS, BALTAZAR NUNES, CARLOS MATIAS DIAS - **Prevalência de Excesso de Peso e de Obesidade Em Portugal: Resultados Do Primeiro Inquérito Nacional de Saúde Com Exame Físico.** INSEF (2015).
25. SCHWARTZ MW, SEELEY RJ, ZELTSER LM, ET AL. - **Obesity pathogenesis: An endocrine society scientific statement.** Endocr Rev. 38 (2017), 267-296.
26. BAPTISTA C. - **LEPTINA.** Acta médica portuguesa. (2002), 281-285.

27. CONTERNO L, FAVA F, VIOLA R, TUOHY KM. - **Obesity and the gut microbiota: Does up-regulating colonic fermentation protect against obesity and metabolic disease?** *Genes Nutr.* 6 (2011), 241-260.
28. FREDRIK BÅCKHED, JILL K. MANCHESTER, CLAY F. SEMENKOVICH, JIG. - **Mechanisms underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice.** *J Mater Sci.* 27 (2007), 2599-2605.
29. HUA V. LIN, ANDREA FRASSETTO, EDWARD J. KOWALIK JR, ANDREA R. NAWROCKI, MOFEI M. LU, JENNIFER R. KOSINSKI, JAMES A. HUBERT, DAPHNE SZETO, XIAORUI YAO, GAIL FORREST, DONALD J. MARSH - **Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms.** *PLoS One.* 7 (2012), 1-9.
30. ANDREAS SCHWIERTZ, DAVID TARAS, KLAUS SCHÄFER, SILVIA BEIJER, NICOLAAS A. BOS, CHRISTIANE DONUS, PHILIP D. HARDT - **Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects.** *Obesity.* 18 (2010), 190-195.
31. CHATTERJEE S, KHUNTI K, DAVIES MJ. - **Type 2 diabetes.** *Lancet.* 389 (2017), 2239-2251.
32. GUELHO D, PAIVA I, CARVALHEIRO M. - **Diabetes mellitus – um «continuum» fisiopatológico.** *Revista Portuguesa Endocrinologia Diabetes e Metab.* 8 (2013), 44-49.
33. NADJA LARSEN, FINN K. VOGENSEN, FRANS W. J. VAN DEN BERG, DENNIS SANDRIS NIELSEN, ANNE SOFIE ANDREASEN, BENTE K. PEDERSEN, WALEED ABU ALSOUD, SØREN J. SØRENSEN, LARS H. HANSEN, MOGENS JAKOBSEN- **Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults.** *PLoS One.* 5 (2010).
34. CANI PD, BIBILONI R, KNAUF C, NEYRINCK AM, DELZENNE NM. **Changes in Gut Microbiota Control Metabolic Endotoxemia-Induced Inflammation in High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes in Mice.** *DIABETES.* 57(2008).
35. PATRICE D. CANI, JACQUES AMAR, MIGUEL ANGEL IGLESIAS, MARJORIE POGGI, CLAUDE KNAUF, DELPHINE BASTELICA, AUDREY M. NEYRINCK, FRANCESCA FAVA, KIERAN M. TUOHY, CHANTAL CHABO, AURÉLIE WAGET, EVELYNE DELMÉE, BÉATRICE COUSIN, THIERRY SULPICE, BERNARD CHAMONTIN, JEAN FERRIÈRES, JEAN-FRANÇOIS TANTI, GLENN R. GIBSON, LOUIS CASTEILLA, NATHALIE M. DELZENNE, MARIE CHRISTINE ALESSI, AND RÉMY BURCELINI - **Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance.** *Diabetes.* 56(2007), 1761-1772.

36. CRUZ D, BAPTISTA C, CARRILHO F. - **Microbiota Intestinal e Diabetes Mellitus: Associações Intrínsecas.** Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. 13 (2018), 35-40.
37. DEN BESTEN G, VAN EUNEN K, GROEN AK, VENEMA K, REIJNGOUD D-J, BAKKER BM. - **The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism.** Journal of Lipid Research. 54 (2013), 2325-2340.
38. AW W, FUKUDA S. - **Understanding the role of the gut ecosystem in diabetes mellitus.** J Diabetes Investig. 9 (2018), 5-12.
39. DOMINGOS A. - **Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano.** Ciência & Saúde. 4 (2011), 66-74.
40. MOYA-PÉREZ A, NEEF A, SANZ Y. - **Bifidobacterium pseudocatenulatum CECT 7765 Reduces Obesity-Associated Inflammation by Restoring the Lymphocyte- Macrophage Balance and Gut Microbiota Structure in High-Fat Diet-Fed Mice.** PLoS One. (2015), 1-28.
41. UPADHYAYA S, BANERJEE G. **Type 2 diabetes and gut microbiome: At the intersection of known and unknown.** Gut Microbes. 6 (2015), 85-92.
42. MORAN CP, SHANAHAN F. - **Gut microbiota and obesity: Role in aetiology and potential therapeutic target.** Best Pract Res Clin Gastroenterol. 28 (2014), 585-597.
43. AMANDINE EVERARD, CLARA BELZER, LUCIE GEURTS, JANNEKE P. OUWERKERK, CÉLINE DRUART, LAURE B. BINDELSA, YVES GUIOT, MURIEL DERRIEN, GIULIO G. MUCCIOLI, NATHALIE M. DELZENNE, WILLEM M. DE VOSB, PATRICE D. CANI - **Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity.** PNAS. 110 (2013), 9066-9071.
44. CANI PD, DELZENNE NM. - **The gut microbiome as therapeutic target.** Pharmacol Ther. 130 (2011), 202-212.
45. ERICSSON AC, FRANKLIN CL. - **Manipulating the gut microbiota: Methods and challenges.** ILAR J. 56 (2015), 205-217.