



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE D
COIMBRA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

ANDRÉ MAGNO DE SÁ VIEIRA MARTINS

***TRANSPLANTE FECAL, O SEU IMPACTO NA MICROBIOTA INTESTINAL
E OPÇÕES TERAPÊUTICAS ASSOCIADAS***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE GASTROENTEROLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:
PROFESSOR DOUTOR PEDRO MANUEL NARRA FIGUEIREDO
DOUTOR DAVID NOIVA LEIRAS RODRIGUES PERDIGOTO

05/2020

TRANSPLANTE FECAL, O SEU IMPACTO NA MICROBIOTA INTESTINAL E OPÇÕES
TERAPÊUTICAS ASSOCIADAS

André Magno de Sá Vieira Martins

Faculdade Medicina da Universidade de Coimbra

PROFESSOR DOUTOR PEDRO MANUEL NARRA FIGUEIREDO

DOUTOR DAVID NOIVA LEIRAS RODRIGUES PERDIGOTO

E-mail: andre.magno.95@hotmail.com

LISTA DE ABREVIATURAS:

BCAA/ ACR – *Branched-chain amino-acids* / aminoácidos de cadeia ramificada

CCR – Carcinoma colorretal

CEP – Colangite esclerosante primária

CHC – Carcinoma hepatocelular

DC – Doença de Crohn

DP – Doença de Parkinson

DII – Doença inflamatória intestinal

GABA/AGAB – *Gamma-AminoButyric Acid* / Ácido gama-aminobutírico

LPS – Lipopolissacarídeos

MDS-UPDRS – *Movement Disorder Society – Unified Parkinson`s disease rating scale*

SCFA/AGCC – *Short chain fatty acids* / Ácidos gordos de cadeia curta

SII – Síndrome do intestino irritável

SNC – Sistema nervoso central

TEA – Transtorno do espectro autista

TLR – *Toll-like receptor*

RESUMO

A microbiota intestinal tem sido uma das temáticas mais intensamente exploradas pela comunidade científica, nas últimas duas décadas. O termo “microbiota intestinal” refere-se a uma vasta comunidade composta por milhões de microorganismos, essencialmente bactérias, que se relacionam entre si, com o organismo hospedeiro e com o meio externo.

No decorrer dos últimos anos, foram vários os estudos que atribuíram à microbiota intestinal funções integrantes da modulação do sistema imunitário, gênese de estados pró-inflamatórios e produção de diversas proteínas, entre as quais algumas com função neuromoduladora. Consequentemente, verificou-se um crescente interesse no conhecimento do seu papel em várias patologias gastrointestinais, metabólicas, neuropsiquiátricas e autoimunes.

Define-se transplante de microbiota intestinal como a transferência de material fecal de um sujeito dador, aparentemente saudável, para um sujeito recetor com um desequilíbrio manifesto na sua comunidade microbiótica intestinal. Potencialmente, em tese, este último beneficiará que o seu aparelho gastrointestinal seja colonizado pela microbiota do dador. Atualmente este procedimento já está aprovado para o tratamento da infeção por *C. difficile* recorrente ou refratária à terapêutica *standard*, mas prevê-se que o seu espectro de ação possa ser ampliado para diversas outras patologias.

Este artigo de revisão aborda o conceito de transplante de microbiota fecal, a sua forma de administração, efeitos adversos associados e potenciais doenças que possam beneficiar desta modalidade terapêutica. É ainda dado enfoque à fisiopatologia e aos mecanismos através dos quais este inovador procedimento pode ser benéfico.

Palavras chave: Microbiota; Transplante fecal; *C. difficile*; Inflamação; Eixo intestino-cérebro.

ABSTRACT

In the last two decades, intestinal microbiota has been one of the most discussed issues by the scientific community. The term "intestinal microbiota" refers to a vast community structure made up by millions of microorganisms, mostly bacteria, which interact with each other, with the host, and with the external environment as well.

Over the last years, several studies have associated intestinal microbiota with immune system modulation, generation of proinflammatory states and in the production of several proteins, including neuromodulators. Therefore, it has been an increasing interest to find out its role in gastrointestinal, metabolic, neuropsychiatric and autoimmune disorders.

Faecal Microbiota Transplantation is the process of transferring faecal bacteria from a healthy individual into another individual who suffers from intestinal microbiota disorders. On paper, the latter will benefit from the transplant of the donor's intestinal microbiota. Nowadays, this procedure is approved for the treatment of recurrent *C. difficile* or when standard treatment fails, but its action spectrum is expected to be expanded to other pathologies.

This review addresses the concept of faecal microbiota transplantation, its therapeutical procedure, its adverse effects and the potential diseases whose treatment can benefit from the performance of this medical method. It also focuses on physiopathology and the mechanisms through which this novel procedure can have a positive outcome.

Key words: Microbiota; Faecal transplantation; *C. difficile*; Inflammation; Gut–brain axis.

ÍNDICE

Introdução	8
Métodos	10
Transplante de Microbiota fecal – Definição	10
Métodos de preparação.....	10
Métodos de administração	11
Efeitos adversos.....	12
Seleção de dadores	13
Acompanhamento médico.....	14
Aplicações.....	14
• Infeção por <i>Clostridium difficile</i>	14
• Aplicações futuras.....	16
• Doença inflamatória intestinal	16
• Colite ulcerosa	17
• Doença de Crohn	19
• Síndrome do Intestino Irritável.....	20
• Hiperamoniémia	20
• Colangite esclerosante primária	21
• Síndrome metabólico e obesidade	22
• Eixo cérebro- microbiota intestinal.....	23
• Transtorno do Espectro Autista.....	24
• Depressão Major	25
• Doença de Parkinson	27
• Esclerose múltipla.....	29
• Cancro	31
Conclusão	32
Bibliografia:	35

Introdução

A microbiota intestinal é uma complexa comunidade, composta por cerca de 80 trilhões de microrganismos, onde predominam inúmeras espécies bacterianas diferentes que interagem entre si e o meio envolvente numa relação simbiótica. A organização e regulação desta comunidade irá predizer o seu impacto no organismo que a acolhe, nomeadamente se este será benéfico ou prejudicial para o mesmo. Estamos, assim, perante um constante equilíbrio dinâmico que, apesar de geralmente vantajoso, pode, devido a fatores despoletantes, descontrolar-se levando a repercussões negativas no hospedeiro ¹.

Esta comunidade, considerada um órgão do corpo humano por alguns autores ², desempenha funções cruciais no organismo. Nomeadamente, contribui para a integridade da barreira intestinal, promove a regeneração celular epitelial, nutre a mucosa ao produzir ácidos gordos de cadeia curta (AGCC), auxilia na maturação do sistema imunitário e ainda sintetiza e metaboliza diversas proteínas e substâncias neuro-ativas tais como o ácido gama-aminobutírico (GABA)².

Ao longo do trajeto gastrointestinal humano, a microbiota varia de forma substancial. Na região proximal, predominam as famílias bacterianas *Streptococcaceae* e *Lactobacillaceae*. Na região distal do íleo predominam as famílias *Lactobacillaceae*, *Erysipelotrichaceae* e *Enterobacteriaceae* e finalmente, no cólon *Bacteroidaceae*, *Ruminococcaceae*, *Prevotellaceae* e *Clostridiaceae* ³.

Tanto alterações estruturais como funcionais desta comunidade, podem levar à quebra da sua homeostase e acarretar consequências nefastas para o organismo que a hospeda. A esta desregulação da homeostasia da microbiota intestinal, dá-se o nome de disbiose intestinal. Esta pode ser causada por diversos fatores, tais como, alterações na dieta, exposição a antibióticos, infeções, doenças e inclusivamente pelo próprio envelhecimento ³.

Com o intuito de corrigir o estado disbiótico mencionado e, assim, repor o normal funcionamento e estrutura da microbiota, começaram a ser utilizadas terapêuticas como a administração de antibióticos/probióticos e, mais recentemente, o transplante de microbiota intestinal. Esta última técnica, consiste na transferência de material fecal de um sujeito dador saudável para um sujeito recetor com disbiose intestinal identificada. É, assim, transferida uma comunidade de microrganismos equilibrada que, se propagará no organismo do hospedeiro recetor transformando a, até então, entidade microbiótica disfuncional, numa comunidade saudável, idêntica à do sujeito dador.

O transplante de microbiota fecal foi descrito pela primeira vez há mais de 50 anos, porém, só muito recentemente, nomeadamente em 2013, conseguiu efetivamente cativar a atenção da comunidade científica geral, aquando da aprovação do seu uso terapêutico na infeção por *Clostridium difficile* refratária pela *United States Food and Drug Administration*. Muitos são os estudos que decorrem atualmente, no sentido de perceber quais os impactos da microbiota intestinal nos vários órgãos do corpo humano (fig.1) e, assim, expandir o seu uso para o tratamento de várias outras doenças gastrointestinais, tais como doença inflamatória intestinal (DII), síndrome do intestino irritável (SII), e ainda doenças neuropsiquiátricas, metabólicas e autoimunes.

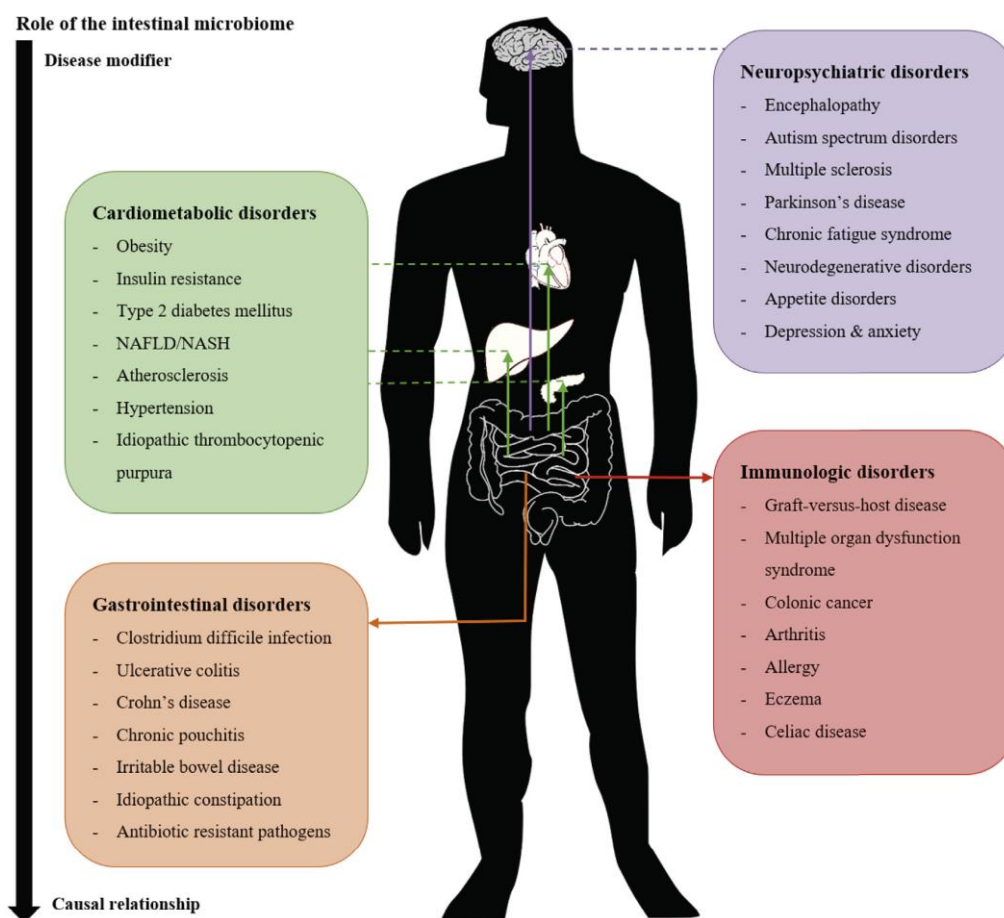


Figura 1- Interações entre a microbiota intestinal e possíveis doenças associadas. Em muitas destas não está demonstrado se as alterações patentes na microbiota são causa ou resultado da doença. Abreviaturas: NAFLD- Non-alcoholic fatty liver disease / Doença do fígado gordo não alcoólico; NASH – Non-alcoholic steato hepatitis / Esteato-hepatite não alcoólica. Adaptado de Wortelboer K, Nieuwdorp M, Herrema H. Fecal microbiota transplantation beyond Clostridium difficile infections. EBioMedicine [Internet]. 2019;44:716–29. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.05.066> ¹

Métodos

A informação presente neste artigo de revisão narrativa foi obtida, maioritariamente, através do motor de busca “Pubmed”. Numa primeira fase, foram pesquisados artigos científicos recorrendo à combinação dos termos “*fecal microbiota transplantation*” tendo sido criteriosamente selecionados os artigos mais relevantes. Numa segunda fase, foram adicionados novos termos à combinação inicial nomeadamente “*adverse effects*”, “*Parkinson*”, “*metabolic syndrome*”, “*cancer*” e cada um dos vários subtópicos mencionados no artigo.

Os critérios de seleção dos artigos corresponderam à sua data e entidade de publicação, tendo sido dada preferência aos publicados mais recentemente e em revistas com maior fator de impacto. Só foram considerados artigos online. Mais de 200 artigos preencheram os critérios impostos e, depois de analisado o resumo de cada um destes, foram selecionados 147 para posterior análise e integração neste trabalho.

Foram ainda consultados dados da Organização Mundial de Saúde relativamente à epidemiologia de várias doenças mencionadas no artigo.

Transplante de Microbiota fecal – Definição

O transplante de microbiota fecal consiste na transferência de fezes minimamente manipuladas de um sujeito dador saudável, selecionado e devidamente monitorizado, para o aparelho gastrointestinal de um sujeito recetor doente, com o objetivo de recolonizar a sua flora intestinal. Este procedimento permite a restauração funcional da microbiota intestinal do sujeito recetor, tornando-a semelhante à do dador. Deste modo, corrige-se o estado disbiótico que poderia estar a causar a patologia do sujeito recetor. A reposição da flora normal permite a normalização das suas funções implícitas e, assim, um restabelecimento funcional do organismo ⁴.

Métodos de preparação

No geral, existem duas formas básicas de uso do material fecal recolhido: fresco ou congelado.

No caso da utilização da amostra fresca, esta deve ser reservada em meio anaeróbio, com temperatura entre os 20-30°C, devendo ser usada até 6 horas depois da defecação ⁵. Uma amostra superior a 30 g de material fecal deve ser dissolvida num conteúdo, com um volume de solvente entre 3 a 5 vezes superior (solução salina a 0.9%) ⁵.

Por outro lado, se a amostra for congelada, antes do processo de congelamento, deve ser

adicionado glicerol até uma concentração final de 10%, e posteriormente preservada a uma temperatura de -80°C. No dia do transplante, a preparação deve ser aquecida num banho a 37.0°C e utilizada até 6 horas depois do processo de descongelamento. A preparação a utilizar deverá ser a anteriormente referida, ou seja, um mínimo de 30 g de material fecal e 150ml de solução salina a 0.9%⁵.

Os utentes recetores, positivos para infeção por *C. difficile* recorrente, devem ser tratados com vancomicina ou fidaxomicina, nos três dias que precedem o transplante de microbiota fecal, devendo a administração destes fármacos ser suspensa 12 a 48 horas antes da infusão. O sujeito recetor deverá ser submetido a uma prévia lavagem intestinal com solução à base de polietilenoglicol⁵.

Métodos de administração

A administração de material fecal pode ser realizada por via oral, através de endoscópio alto com entubação duodenal, gastrostomia, tubo nasogástrico/nasोजejunal e cápsulas, ou por via anorretal, através de enemas ou mediada por colonoscopia.

Cada uma destas técnicas tem associadas vantagens e desvantagens. A colonoscopia, apesar de ser bastante eficaz, consiste num método mais invasivo, geralmente exigindo sedação. Para além disso, acarreta possíveis efeitos adversos graves, embora consideravelmente raros, tais como perfuração cólica e complicações anestésicas. Nesta técnica, o material fecal do dador deve ser infundido preferencialmente no cólon direito ⁵.

O enema, é muito menos invasivo, não carece de sedação e os efeitos adversos são extremamente raros. Este pode ser repetido facilmente, exigindo apenas que o doente permaneça em supinação e conserve, durante pelo menos 30 minutos, o material fecal no interior do organismo. Estas vantagens tornam este método o mais adequado para doentes em estado crítico de saúde ⁵.

Em contrapartida, na via oral, a colocação do tubo nasogástrico, apesar de nem sempre exigir sedação, deve ser corretamente realizada a nível duodenal, o que pode causar desconforto, náuseas e vômitos aquando da sua colocação ⁵.

Mais recentemente, a administração oral sob a forma de cápsulas orais gastrorresistentes, veio revolucionar este procedimento, na medida em que permite que este seja realizado, de forma mais prática e confortável para os doentes, comparativamente aos restantes métodos.

O transplante de microbiota fecal pode e deve ser repetido caso não se verifiquem resultados clinicamente significativos, ou em casos de recorrência. Na colite por *C. difficile* (CD) severa

com evidência de pseudomembranas e nas doenças inflamatórias intestinais, a realização de um maior número de infusões de material fecal revelou ser especialmente benéfico ⁵.

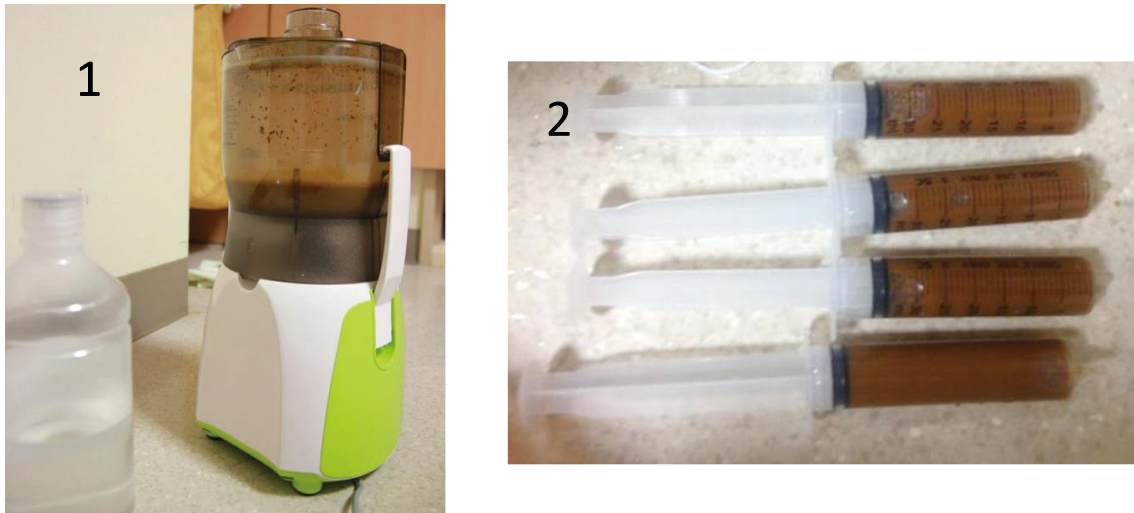


Figura 2- Preparação do material fecal. Material fecal do sujeito dador e solução salina (1); Suspensão preparada de 50 ml para ser administrada durante a infusão no sujeito recetor, neste caso, por colonoscopia (2). Adaptado de: Choi HH, Cho YS. Fecal microbiota transplantation: Current applications, effectiveness, and future perspectives. Clin Endosc. 2016;49(3):257–65 ¹⁴⁹

Efeitos adversos

O transplante de microbiota fecal é descrito, nos mais variados estudos realizados, como uma terapêutica bastante segura e com poucos efeitos adversos. Na maior parte das situações, os efeitos adversos observados são muito ligeiros, pouco específicos e demonstram um tempo de resolução breve, variando entre poucos dias a algumas semanas. Entre eles, os mais comuns correspondem a diarreia, sensação de desconforto e distensão abdominal, obstipação e febre transitória ⁶.

Pontualmente, foram registados alguns efeitos adversos mais graves, entre os quais se destacam febres elevadas, infeção com ou sem sépsis associada, agudização de doença inflamatória intestinal, transmissão de microrganismos patogénicos entéricos e reativação de citomegalovírus. Embora raras, devem também ser consideradas as complicações inerentes às técnicas utilizadas, nomeadamente perfuração, hemorragia e pneumonia por aspiração ⁶.

Uma revisão sistemática realizada por Wang e seus colaboradores em 2016, reuniu 50 estudos, com um total de 1089 doentes, tendo estudado os efeitos adversos na aplicação deste transplante, não só na infeção por *C.difficile*, como também na DII e síndrome do intestino irritável ⁷. Os resultados revelaram uma incidência de efeitos adversos global de 28.5%, sendo mais frequentes na administração realizada pelo trato gastrointestinal superior

(48.5%) face ao inferior (17.7%). Cerca de 9.2% dos doentes sofreram de efeitos adversos mais graves, incluindo morte (3.5%), infeção (2.5%), infeção por *C. difficile* (0.9%) e agravamento da DII (0.6%). Apesar da taxa de mortalidade relatada mostrar-se significativamente elevada, apenas num único caso a causa de morte foi indubitavelmente atribuída à realização do transplante de microbiota fecal, tendo resultado da ocorrência de aspiração orotraqueal de conteúdo gástrico, induzida pela sedação usada na colonoscopia ⁷. Nos restantes casos, não ficou comprovado que o desfecho fatal se deveu ao procedimento ⁷.

A indução no sujeito recetor de doenças metabólicas, autoimunes ou cancro, potencialmente presentes no dador, não está ainda demonstrada, mas deverá ser alvo de precaução e estudo posterior.

No geral, pessoas imunocomprometidas, ou doentes com doença inflamatória intestinal, são considerados grupos de risco para a realização do transplante de microbiota fecal, uma vez que os eventos adversos poderão ser mais frequentes nestes grupos ⁶.

No sentido de promover a redução da incidência da maioria dos efeitos adversos, estudos apontam que a purificação do material fecal e a correta seleção do dador possam ter um papel crucial ⁸.

Seleção de dadores

Os candidatos a dadores de material fecal devem passar por uma rigorosa seleção. O enfoque deste processo de seleção deve ser excluir a presença de patologias que possam afetar o sujeito recetor. Estão à partida excluídos: dadores com infeções ativas, pessoas que tenham realizado viagens recentes ao estrangeiro (de modo a evitar por exemplo a transmissão de doenças diarreicas endémicas), dadores com comportamentos sexuais de risco, utilizadores de drogas ilícitas e/ou utilizadores de antibióticos nos 3 meses anteriores à doação. Para além disso, possíveis dadores não podem ter evidência de doenças gastrointestinais tais como, doença inflamatória intestinal, síndrome do intestino irritável, infeção por *H. pylori* e/ou *C. difficile*, ou ainda neoplasia gastrointestinal. Finalmente, estes não devem apresentar alergias sintomáticas, doenças autoimunes e síndrome metabólica ^{9,10}.

Para assegurar que todos estes pré-requisitos são preenchidos, devem ser levadas a cabo entrevistas e questionários aos candidatos, de modo a obter informação sobre o seu historial médico e hábitos de vida, avaliando, assim, o risco clínico e social do transplante. Por fim, deverão ser realizadas análises laboratoriais ao sangue e fezes com o intuito de identificar a presença de bactérias como *C.difficile*, *H. pylori*, *Salmonella* e *Shigella* e ainda rastrear a existência de doenças como a sífilis, infeção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) e

hepatite A, B e C ^{9,10}.

É de notar que não existem estudos que demonstrem uma eficácia significativamente superior na seleção de dadores relacionados filogeneticamente com o recetor, à de dadores anónimos saudáveis ⁵.

Depois de informado dos possíveis efeitos adversos da intervenção, o recetor deve fornecer o seu consentimento expresso. Este deverá suspender as terapêuticas antibióticas que estiver, eventualmente, a realizar, pelo menos 1 ou 2 dias antes do transplante. No dia anterior ao procedimento, deve ser submetido a uma limpeza intestinal, sendo que, na hora imediatamente anterior, é essencial a administração de um inibidor da motilidade intestinal para permitir a preservação do transplante por pelo menos 4h após a realização da técnica ⁹.

De modo a garantir o máximo de segurança possível no procedimento, o dador, no próprio dia do transplante, deve ser submetido a um novo questionário, excluindo o aparecimento de novos sintomas gastrointestinais ou constitucionais, novos parceiros sexuais, novas viagens ou uso de antibióticos e /ou outras substâncias que levem à alteração da microbiota intestinal ⁵.

Acompanhamento médico

O paciente deve ser monitorizado imediatamente após o procedimento, durante um período ainda não bem estabelecido, mas que dependerá da via de administração escolhida⁵. No caso da infeção por *C. difficile*, deve ser feito um acompanhamento pós-infusão de, pelo menos, 8 semanas, devendo verificar-se uma melhoria na consistência das fezes e nos parâmetros laboratoriais, endoscópicos e/ou radiológicos. Embora ainda não existam protocolos de seguimento a longo prazo, o relato de desenvolvimento tardio, em raros casos, de neuropatia periférica, doença de *Sjögren*, purpura trombocitopénica idiopática e artrite reumatoide, implicará, provavelmente, que seja estabelecido um acompanhamento mais prolongado do paciente ⁵.

Aplicações

Infeção por *Clostridium difficile*

Clostridium difficile é a causa mais frequente de infeções relacionadas com os cuidados de saúde ⁴. Devido à sua elevada relevância, é uma das doenças mais bem documentadas a nível do seu impacto na microbiota intestinal. Neste sentido, foi demonstrado que as fezes de um doente com infeção por *C.difficile* têm claras diferenças ao nível da abundância relativa de várias famílias bacterianas diferentes. Salienta-se um aumento da abundância das famílias *Enterobacteraceae*, *Veillonellaceae* e *Lactobacillaceae* e uma clara diminuição de *Lachnospiraceae*, *Bacteroidaceae* e *Ruminococcaceae* ⁴.

Nos anos 50, já se hipotetizava o benefício do uso de material fecal de pessoas saudáveis em sujeitos com *C. difficile* ⁴. No entanto, foi a posterior realização de ensaios comparativos entre o transplante de microbiota fecal e as terapêuticas antibióticas *standard* (vancomicina e fidaxomicina) que permitiu, efetivamente, demonstrar que uma única transplantação de microbiota seria suficiente para, não só tratar a infecção de uma maneira bastante inócua, como também ajudar na prevenção de futuras recorrências ⁴.

Até à data, foram vários os estudos e revisões sistemáticas levados a cabo com o intuito de provar a eficácia desta terapêutica. Entre os mais relevantes, está um estudo randomizado duplamente cego realizado por Kelly e seus colaboradores, que envolveu um total de 46 doentes, tendo 22 sido sujeitos a transplante fecal via colonoscopia, considerado o grupo de teste, e 24 sujeitos a transplante autólogo de fezes (placebo), considerado grupo de controlo ¹¹. Destes, a taxa de eficácia foi de 90,9% nos doentes sujeitos a transplante da microbiota fecal e apenas 62.5% nos tratados com placebo ¹¹. Também Cammarota e respetivos colaboradores, realizaram um importante estudo clínico em 39 doentes com infecção por *C.difficile* recorrente. Neste, 20 foram tratados com transplante recorrendo à colonoscopia e, 19 com a terapêutica *standard* com vancomicina. A melhoria dos sintomas aconteceu em 90% dos doentes transplantados, comparado com apenas 26% nos que usaram a vancomicina. Desde então, os artigos de revisão, compilando os resultados dos vários estudos até à data, mostram de forma unânime taxas de eficácia entre os 80 e 92% para o tratamento de infecção por *C.difficile* com apenas uma infusão de microbiota fecal ^{12,13}.

Os mecanismos por detrás deste sucesso, ainda não foram completamente esclarecidos, mas acredita-se que estejam relacionados com a produção de bacteriocinas (proteínas bactericidas) pela nova microbiota instaurada, e com a competição por recursos nutricionais entre esta nova comunidade de microorganismos e o *C.difficile* ¹⁴.

A análise fecal dos doentes transplantados permitiu verificar que, 6 meses após o transplante, a microbiota do sujeito recetor era, na sua generalidade, idêntica à do sujeito dador. Para além disso, demonstrou-se que a eficácia desta técnica tem a duração de pelo menos um ano ⁴.

Apesar de todo o potencial que o transplante de microbiota fecal tem vindo a demonstrar no tratamento da infecção por *C difficile*, ainda são escassas as circunstâncias em que está, de facto, formalmente indicada ⁴. Não foi ainda demonstrada superioridade terapêutica no uso desta técnica, em doentes num primeiro episódio de infecção por *C.difficile* ⁴. A utilização do transplante fecal está reservada para casos de elevado risco de recorrência, infecção refratária ou infecção severa/severa-complicada. No caso de infeções complicadas, a resolução

passava, em cerca de 30% das vezes, obrigatoriamente pelo tratamento cirúrgico, sendo que este apresentava uma taxa de mortalidade, de aproximadamente 50%. Atualmente, o transplante de microbiota fecal permite, frequentemente, nestas situações, evitar a abordagem cirúrgica^{4,5}. Fisher e seus colaboradores demonstraram que 91% (51/57) dos doentes em estudo com infecção por *C.difficile* severa e severa-complicada, ficaram curados após um mês de tratamento com uma ou mais infusões de microbiota fecal, concomitantemente ao uso de vancomicina, evitando uma provável abordagem cirúrgica^{5,15}.

Aplicações futuras

Doença inflamatória intestinal

Ainda não é completamente perceptível se as alterações na microbiota intestinal serão realmente causa ou consequência das doenças inflamatórias intestinais, tais como a doença de Crohn (DC) ou a colite ulcerosa⁴. No entanto, é já claro que estas resultam de uma complexa interação entre vários fatores, entre os quais, para além da microbiota intestinal, intervêm o sistema imunitário, a própria conformação da barreira GI em si e a predisposição genética de cada um¹⁶. Vários precipitantes destas doenças têm sido sugeridos. Ensaio em animais revelaram que a ausência, nas células epiteliais intestinais, da expressão do recetor TLR-5 (Toll-like receptor -5), cuja normal função é mediar a interação entre a flagelina (proteína bacteriana) e o hospedeiro, resultou em intensificações espontâneas de mecanismos pró-inflamatórios. Consequentemente, verificou-se o aparecimento de colite, acompanhada de uma alteração na microbiota entérica¹⁷.

A microbiota intestinal está presente, como já foi mencionado, na base de importantes funções, nomeadamente, no metabolismo de ácidos gordos, síntese de aminoácidos, produção de toxinas e regulação do stress oxidativo. Torna-se evidente, então, hipotetizar que a sua alteração, e consequente desregulação das suas funções, terá um impacto crucial na génese destas patologias. Com o intuito de o demonstrar, foram várias as terapêuticas sugeridas, visando modificar a microbiota intestinal¹⁸. Antibióticos e probióticos começaram a ser utilizados como possíveis auxiliares nestas patologias e foram vários os estudos que tentaram comprovar a sua eficácia¹⁹⁻²¹.

No entanto, devido à difícil reprodutibilidade destes estudos, à imprevisibilidade dos seus efeitos e à dificuldade na manutenção a longo prazo das alterações induzidas, especialmente pelos probióticos, estas terapêuticas são ainda muito restritas na prática clínica, embora existam alguns ensaios com resultados promissores. São vários os ensaios clínicos até à data que demonstram, por exemplo, a eficácia dos antibióticos (metronidazol, ciprofloxacina ou ambos) no tratamento da DC com fistulização peri-anal e/ou abscessos abdomino-pélvicos²².

A nível de probióticos, existem também potenciais exemplos de sucesso, como é o caso do *E. coli Nissle 1917*, cuja eficácia em manter a remissão da colite ulcerosa foi demonstrada em alguns estudos, ser idêntica à mesalazina ²³. O probiótico VSL#3 que agrupa 7 espécies bacterianas diferentes, apresentou também resultados muito promissores na prevenção da inflamação da bolsa ileal em doentes submetidos a colectomia ²³. No entanto, as respostas aos probióticos são muito variáveis e o ‘enxerto’ das espécies bacterianas utilizadas é geralmente pobre e pouco duradouro.

O transplante fecal surge neste contexto, como uma alternativa mais controlada e eficaz de corrigir a disbiose subjacente a estas patologias e, com isso, reduzir/eliminar o estado pró-inflamatório gerado ^{24,25}.

Foi demonstrado que na DII existe uma diminuição geral da diversidade na microbiota intestinal. Destacam-se, principalmente, uma diminuição relativa de bactérias do filo *Firmicutes* e algumas espécies do filo *Bacteroidetes* como a *Bacteroides fragilis*, que, no geral, apresentam uma conhecida função protetora anti-inflamatória. Sublinha-se ainda uma diminuição de *Calibacterium prausnitzii*, cujo impacto pode ser também importante devido à sua função de ativação de células T reguladoras ²⁶⁻²⁸. Em contrapartida, as bactérias dos filo *Actinobacteria* e *Proteobacteria*, especialmente as da espécie *E.coli*, estão anormalmente elevadas na DII ativa ^{28,29}.

Adicionalmente, estudos mais recentes apontam para que as mesmas citocinas com papel pró-inflamatório, possam, na verdade, agir também como anti-inflamatórias dependendo da modulação da microbiota intestinal existente ³⁰. Este conhecimento evidencia, ainda de forma mais significativa, o potencial terapêutico na DII de técnicas com capacidade de modificar a microbiota intestinal, onde o transplante fecal está incluído.

Colite ulcerosa

O primeiro caso relatado de remissão de colite ulcerosa, utilizando o transplante de microbiota fecal, remonta a 1989 ³¹. Desde então, vários têm sido os artigos científicos e artigos de revisão realizados que o tentaram demonstrar, porém com resultados um pouco variados e contraditórios.

Em 2015, Rossen e seus colaboradores estudaram 37 doentes, sendo que destes, metade receberam material fecal de dadores não consanguíneos e a outra metade transplantes autólogos de fezes (grupo de controlo). Em ambos os grupos, o procedimento foi realizado por sonda nasojejunal, e por duas vezes ao longo de um período de 3 semanas ³². A remissão clínica foi de 30.4% no grupo onde as fezes transplantadas foram provenientes de dadores

externos e 20% no grupo controlo ($p=0.51$)³². Apesar de serem resultados estimulantes não foi atingida a diferença estatisticamente significativa entre a remissão de ambos os grupos³².

Recorrendo a um protocolo mais rigoroso, Paramsothy (2015) realizou um estudo duplamente cego no qual utilizou um total de 85 doentes com idades entre os 17 e os 75 anos com Mayo score entre 4 e 10, sendo que cada doente foi sujeito a um total de 41 transplantes fecais³³. O primeiro realizado por colonoscopia, seguido de cinco enemas semanais durante 8 semanas³³. É importante mencionar que as fezes utilizadas no grupo de teste foram sempre provenientes de vários dadores em simultâneo ($n=3-7$)³³. Neste estudo a remissão clínica foi alcançada em 27% dos doentes que receberam transplante de outros dadores e apenas em 8% no grupo de controlo ($p=0.021$), tendo-se verificado uma diferença estatisticamente significativa³³.

Em 2017, o mesmo autor, Paramsothy, conduziu aquela que foi uma das primeiras e mais vastas revisões sistemáticas sobre o tema, onde analisou 42 estudos com um total de 555 doentes envolvidos, sujeitos a transplante de microbiota intestinal. No geral, houve remissão clínica da doença em 36% dos casos, a qual se manteve durante o tempo de acompanhamento clínico, período esse muito variável entre os vários estudos (entre 3 meses e 17 anos).

Paramsothy verificou ainda que o método de administração e o número de infusões usadas aparentou ter extremo impacto nos resultados. A infusão de material fecal através do trato gastrointestinal inferior demonstrou uma taxa de remissão da doença de 36%, enquanto que, através do trato superior, apenas foi de 17%. Adicionalmente, a administração de dez ou mais infusões fecais no mesmo doente obteve uma taxa de sucesso média de 49%, enquanto que a taxa de remissão utilizando menores números de infusões foi, em média, bastante mais baixa, com 27%. Finalmente, foi ainda benéfico o uso de antibiótico pré-procedimento (33% de remissão contra os 28% do grupo que não usou)³⁴. Assim, um grande número de infusões através do trato gastrointestinal inferior, com uso de antibiótico previamente, aparenta ser a metodologia mais eficaz nesta patologia.

Foram várias as meta-análises que se seguiram, todas elas revelando uma superioridade do transplante fecal relativamente ao grupo de controlo na remissão clínica e endoscópica³⁵⁻³⁷.

Ao longo dos anos, com o aperfeiçoamento dos estudos, mais algumas particularidades foram sendo afirmadas com o intuito de otimizar os resultados obtidos. A preparação das fezes em ambiente anaeróbio foi um desses fatores promissores, mencionado em 2019 por Costello e seus colaboradores, que permitiu uma taxa de remissão no grupo de teste de 32% comparativamente com 9% no grupo de controlo ($p=0.03$)³⁸. Também curioso foi o achado de Moayyedi, numa experiência que incluiu 70 doentes, em que dos 9 indivíduos em que se

verificou remissão da doença, 7 receberam transplante do mesmo dador ³⁹. Isto leva-nos a acreditar que para além da importância da seleção rigorosa de dadores saudáveis, a escolha final deverá ser personalizada para cada doente, tendo em conta os fatores clínicos e microbiológicos de cada um, fatores esses, em grande parte, ainda por identificar.

Apesar dos resultados serem promissores, há necessidade de se realizarem estudos mais extensos e regulamentar de forma mais específica o rastreio de dadores, pelo que estes défices continuam a inviabilizar a aplicação desta técnica na prática clínica ^{30,34}. É essencial que se proceda a uma otimização de doses, vias de administração, número de infusões e duração da terapia. Não deve ser também descurada, a necessidade do estabelecimento do tempo de acompanhamento necessário para que sejam tidas em atenção a eficácia e a segurança do tratamento a longo prazo ^{30,34}.

Doença de Crohn

Tal como na colite ulcerosa, o papel do transplante de microbiota fecal na doença de Crohn tem sido, desde 1989, alvo de intenso escrutínio científico, sendo que, os seus resultados são ainda mais variáveis e menos consensuais ²⁴. Casos clínicos de sucesso isolados, como o relatado por Gordon e colaboradores em 2014, contribuíram para o contínuo desta pesquisa⁴⁰. Neste caso, um jovem de 35 anos com DC grave, obteve remissão clínica da doença durante 6 meses, após ter sido submetido a transplante fecal.

A mesma meta-análise elaborada em 2017 por Paramsothy, mencionada aquando da Colite ulcerosa, também incluiu o impacto do transplante de microbiota fecal na doença de Crohn, reunindo 11 estudos, com um total de 83 doentes, em que a remissão durante o seguimento clínico foi de 50.5% (42/83 dos doentes). O tempo de seguimento após procedimento foi muito variável ³⁴.

Em 2018, um estudo liderado por Vaughn, avaliou o impacto do transplante fecal, realizado exclusivamente por colonoscopia, na doença de Crohn. Os resultados obtidos foram também positivos, sendo que a remissão clínica foi obtida ao fim 4 semanas em 58% dos doentes em teste (11/19). Destes, 55% (10/19) mantiveram-se nesse estado por 12 semanas ⁴¹.

Mais recentemente, um estudo publicado em 2019 foi um dos primeiros a incluir simultaneamente o resultado clínico, endoscópico e microbiológico do transplante fecal na DC⁴². Dos 10 doentes envolvidos neste estudo, 3 obtiveram remissão clínica (definida por uma redução maior ou igual a 3 do índice clínico de *Harvey-Bradshaw*). A nível da microbiota intestinal verificaram-se alterações nestes 3 indivíduos, nomeadamente com um aumento geral da sua diversidade e uma diminuição da abundância relativa de bactérias associadas a

estados pró-inflamatórios, nomeadamente as *Enterobacteriaceae* e *Ruminococaceae*. No entanto, a nível endoscópico (utilizando o *Simple Endoscopic Score for Crohn Disease*) e a nível dos marcadores inflamatórios usados (utilizando a calprotectina fecal) não se verificaram diferenças significativas neste estudo⁴².

Embora não se verifique uma sólida evidência científica, que apoie a aplicação do transplante fecal na DC, os resultados dos estudos realizados até à data, parecem indicar que possa, de facto, ter um papel preponderante nesta patologia num futuro próximo.

Síndrome do Intestino Irritável

A microbiota intestinal parece ter um papel fundamental na modificação da fisiopatologia do síndrome do intestino irritável, uma vez que são evidentes claras diferenças entre a microbiota intestinal de um indivíduo com a patologia e a de um indivíduo saudável^{43,44}. No entanto, ainda não estão bem esclarecidas quais são, exatamente, os tipos bacterianos que estão implicadas neste processo^{43,44}. Alguns trabalhos publicados neste âmbito mostraram resultados positivos em relação à aplicação do transplante fecal em todos os tipos de SII, seja SII com obstipação, com diarreia ou misto⁴⁴⁻⁴⁷. Observou-se que a redução significativa dos sintomas ocorreu a curto prazo (1 a 3 meses) em 75-85% dos casos enquanto que a longo prazo (>6 meses) esta foi de 45-60%. Foi possível verificar a ocorrência de alterações na microbiota do sujeito recetor, tendo esta, de um modo geral, se tornado idêntica à do sujeito dador, o que destaca a relevância de uma boa seleção de dadores. O facto de o efeito diminuir com a passagem do tempo desde o momento do transplante, leva-nos a crer que este procedimento deva ser repetido com significativa periodicidade, de modo a se poder manter o efeito desejado. Ainda assim, é imprescindível a realização de mais estudos neste âmbito, antes de uma possível aplicação do transplante fecal na prática clínica do SII.

Hiperamoniémia

É de conhecimento médico geral que a hiperamoniémia pode ter efeitos muito deletérios no ser humano. Patologias como a cirrose hepática, em que a capacidade de se produzir ureia a partir da amónia pelo fígado fica comprometida, podem conduzir a um quadro de encefalopatia, piorando drasticamente o prognóstico da doença, apesar da terapia de base instituída com lactulose e rifaximina. A existência de bactérias produtoras de urease no trato gastrointestinal humano, fez pensar na hipótese de ser possível diminuir os níveis de amoniémia através da eliminação ou redução destas bactérias na flora intestinal. A transplantação de microbiota fecal poderia surgir neste contexto, como uma, potencial ferramenta capaz de causar esta diminuição bacteriana. Neste seguimento, foram realizadas

algumas experiências em murinos com o intuito de se verificar qual o impacto da diminuição destas bactérias produtoras de urease no prognóstico de patologia hepática. Shen e seus colaboradores manipularam artificialmente a microbiota destes animais, de modo a obterem um mínimo de atividade de urease possível a nível intestinal. Posto isto, verificaram que, comparado com os murinos normais, estes apresentavam uma menor morbidade e mortalidade no contexto de lesão hepática⁴⁸. Com este conhecimento adquirido, dois estudos subsequentes propuseram-se a avaliar qual seria o real impacto da transplantação fecal no contexto de cirrose em humanos e, tanto a curto como a longo prazo, estes mostraram uma melhoria nos parâmetros cognitivos e no número de hospitalizações em comparação com a terapêutica *standard* isolada^{49,50}. No entanto, esta ainda é uma área de aplicação pouco explorada, sendo que os estudos mencionados contemplaram amostras muito pequenas de doentes.

Colangite esclerosante primária

A colangite esclerosante primária (CEP) é uma doença caracterizada pela inflamação crónica e progressiva das vias biliares⁵¹. Inerente a esta condição, verifica-se um risco de falência hepática e surgimento de doenças como o colangiocarcinoma, estando muitas vezes associada a doenças inflamatórias intestinais, nomeadamente a colite ulcerosa⁵¹. Doentes com esta patologia têm uma menor diversidade geral da microbiota intestinal em comparação a pessoas saudáveis ou pessoas que apenas possuam colite ulcerosa^{52,53}.

Neste sentido, verificou-se um aumento, em proporção relativa, de géneros bacterianos específicos como *Veillonella* e *Enterococcus* sendo que, o aumento deste último está geralmente associado a uma elevação da fosfatase alcalina. Por conseguinte, a fosfatase alcalina pode ser utilizada como marcador da gravidade desta doença⁵³.

O facto de se acreditar que a etiologia da CEP poderá advir da resposta exagerada a endotoxinas produzidas por agentes da microbiota intestinal e a alterações da própria microbiota, coloca esta patologia numa das possíveis aplicações do transplante de microbiota fecal⁵⁴. Um caso clínico publicado em 2018 e um estudo de 2019 vieram tentar demonstrar que, efetivamente, esta técnica poderia ter utilidade terapêutica nesta área.

No primeiro caso, um homem de 38 anos com CEP e colangite bacteriana recorrente foi sujeito a transplante fecal semanalmente, durante 4 semanas, tendo obtido acentuadas melhorias clínicas e bioquímicas (fosfatase alcalina, bilirrubina) durante o período de um ano⁵⁵.

O segundo, foi um estudo realizado em 9 doentes com colangite esclerosante e doença inflamatória intestinal de base. Recorrendo a uma única infusão de material fecal por

colonoscopia, verificou-se uma melhoria em cerca de 30% dos casos, com redução da fosfatase alcalina para metade dos valores basais. Verificou-se também, um aumento da diversidade da microbiota intestinal pós-transplante, na generalidade dos doentes ⁵⁶. É necessária a elaboração de mais estudos neste contexto, porém os resultados aparentam ser promissores.

Síndrome metabólica e obesidade

A síndrome metabólica é considerada uma das maiores epidemias do século XXI. Estima-se que o número de pessoas com excesso de peso, em todo o mundo, ultrapasse os 2 mil milhões, sendo que só em obesos o número deverá ultrapassar os 600 milhões, com custos globais anuais implicados na ordem dos triliões de euros⁵⁷.

Existem atualmente alguns estudos realizados em animais, que demonstraram uma clara relação entre a obesidade e um estado disbiótico intestinal^{58,59}. Falta, no entanto, clarificar se em humanos a presença dessa disbiose é causa ou consequência deste problema. Vanessa K. Ridaura e colaboradores realizaram um estudo que consistiu em colonizar ratos livres de microbiota intestinal (“*germ free*”) com a microbiota intestinal de 154 gémeos humanos com fenótipos discordantes no que toca a obesidade (presença de obesidade em apenas um dos gémeos). Verificou-se que os ratos que receberam a microbiota do gémeo fenotipicamente obeso, ganharam consideravelmente mais peso e adiposidade do que aqueles cujo dador era fenotipicamente mais magro ⁶⁰. Adicionalmente, os ratos cujo dador era obeso, apresentaram menores níveis de diversidade bacteriana, especialmente dos níveis relativos do filo *Bacteroidetes*, e, concomitantemente, uma diminuição de ácidos gordos de cadeia curta (AGCC), como o butirato e propionato, e aumento de aminoácidos de cadeia ramificada (ACR) ⁶⁰.

Por sua vez, um outro estudo realizado por Kootle e colaboradores, demonstrou que o transplante de microbiota fecal de um dador saudável, quando comparado com um controlo (transplante autólogo de fezes), melhora a resistência à insulina, a curto prazo (6 semanas) em indivíduos com síndrome metabólica, sendo que a longo prazo (18 semanas), este efeito diminui, desconhecendo-se a causa para que tal aconteça ⁶¹.

Estes resultados podem ser explicados através da presença de uma ação regulatória de alguns metabolitos, como é o caso dos lipopolissacarídeos (LPS), AGCC, ACR e ácidos biliares que, entre outros, vão interferir na sensibilidade à insulina e aumento da adiposidade, tendo este fenómeno sido descrito em trabalhos anteriores ⁶². Uma vez que estas substâncias parecem ser reguladas, parcialmente, pela microbiota intestinal, poderá ser, assim, estabelecido um elo de ligação responsável pela aplicação do transplante fecal nesta

patologia⁶².

Nos restantes parâmetros metabólicos, os estudos realizados em humanos, até à data, têm-se mostrado relativamente contraditórios pelo que deverão continuar a ser tópicos de estudo.

Hepatite B

Embora ainda muito remota, existe a possibilidade desta terapêutica poder ser útil no tratamento da hepatite B, especialmente em doentes com AgHBe persistente depois de longos períodos de tratamento com antivirais ⁶³.

Eixo cérebro-microbiota intestinal

A relação entre o cérebro, o intestino e as suas possíveis interações, têm sido alvo de intenso escrutínio científico nos últimos anos. O mecanismo inerente a esta comunicação ainda não foi explicado, porém, acredita-se que poderá ser dividido em diferentes componentes, nomeadamente, comunicação neuronal, neuroendócrina e imunológica. Acredita-se que estará subjacente à existência de um eixo bidirecional, em que o cérebro estimula o sistema imunitário e gastrointestinal, modelando a microbiota presente, e em contrapartida a microbiota produz metabolitos e substâncias neuromoduladores, como neurotransmissores, que regularão parcialmente a atividade cerebral⁶⁴. Várias experiências foram realizadas em *germ free mices* com o intuito de demonstrar esta conexão até agora inexplorada. Efetivamente, estes animais, cuja microbiota intestinal era inexistente, apresentavam alterações marcadas no comportamento, tais como atos executados repetitivamente e diminuição da sociabilidade⁶⁵⁻⁶⁸. Estes resultados permitiram o aparecimento de um novo conceito de fármacos e terapêuticas denominadas psicobióticas, onde o transplante de microbiota fecal poderá ser incluído ⁶⁴. Neste seguimento, acredita-se que a microbiota intestinal poderá estar implicada em vários distúrbios neurológicos como a ansiedade, a depressão, a doença de Parkinson (DP) e o autismo ^{69,70}.

Por fazer parte da barreira intestinal, um distúrbio da microbiota pode levar à entrada de bactérias não desejadas, através dos desmossomas, para o tecido linfóide mesentérico havendo, por conseguinte, libertação de endotoxinas que desencadeiam uma resposta inflamatória. Esta, por sua vez, induzirá uma desregulação da produção de substâncias neuroativas no intestino, afetando o sistema nervoso central (SNC) ⁶⁹. Um estudo realizado por Bagga e seus colaboradores demonstrou, recorrendo à ressonância magnética cerebral funcional, que a administração de probióticos está associada à presença de uma determinada alteração comportamental e imagiológica característica, reforçando esta hipótese ⁷¹.

Transtorno do espectro autista

É de domínio geral que os transtornos do espectro autista (TEA), para além das clássicas alterações comportamentais, têm tipicamente associadas inúmeras comorbilidades gastrointestinais que, por sua vez, apresentam um impacto negativo significativo na vida destes doentes ^{72,73}. O atual interesse científico reside em considerar estas comorbilidades não exclusivamente como consequências da doença, mas também como causa desta. Há vários anos que são descritos alguns casos que corroboram esta possível relação, em que se relata, por exemplo, que crianças que realizaram antibioterapia prolongada devido à presença de otites, teriam desenvolvido autismo em sequência dessa terapêutica ^{74,75}.

Embora na altura da sua publicação estes resultados pudessem ter parecido inacreditáveis e mesmo, eventualmente, um pouco anedóticos, diversos estudos têm vindo a dar fundamento à sua existência.

Atualmente, considera-se que indivíduos com esta patologia apresentam variações de alguns tipos bacterianos comparativamente aos indivíduos neurotípicos. Nos vários estudos realizados, considera-se que nos indivíduos com autismo existe um ligeiro aumento geral das bactérias do filo *Bacteroidetes*, especialmente *Bacteroides vulgatus*, conhecido por ser produtor de ácido propiónico e outros ácidos gordos de cadeia curta. Por sua vez, já tinha sido verificado em experiências anteriores que o ácido propiónico quando administrado sob a forma de injeção intraventricular no cérebro de ratos, provocava sintomas no espectro do autismo ⁷⁶⁻⁷⁹.

Bactérias do filo *Firmicutes* estão, no geral, relativamente mais presentes em indivíduos neurotípicos. Uma exceção importante, no entanto, são as bactérias da ordem *Clostridiales* que, embora pertençam ao filo *Firmicutes*, estão consideravelmente aumentadas em indivíduos com transtornos do espectro autista. De entre os *Clostridiales*, as bactérias mais marcadamente presentes são as pertencentes às famílias *Lachnospiraceae*, *Clostridiaceae*, *Ruminococcaceae* e *Oscillospiraceae* ^{76,79}. É também importante relembrar que os *Clostridiales* são produtores de algumas neurotoxinas, como é o caso do 4-etilfenilsulfato (4-EPS). Este é quimicamente idêntico ao p-cresol que foi demonstrado estar em níveis elevados na urina de crianças com graves transtornos do espectro autista ⁸⁰.

Os géneros bacterianos *Veillonella*, *Weissella*, *Papillibacter*, *Prevotella*, *Bifidobacterium*, *Alistipes*, *Bilophila*, *Dialister*, *Parabacteroides* e *Coprococcus* estão relativamente diminuídos nesta patologia, embora ainda não seja inteiramente conhecido o impacto desta alteração ^{78,81,82}.

Outra relação curiosa, consiste na homeostase serotoninérgica a nível gastrointestinal. Tem vindo a ser demonstrado que metabolitos produzidos pela flora intestinal estimulam diretamente as células enterocromafins do intestino a produzir serotonina, aumentando assim os seus níveis plasmáticos⁸³⁻⁸⁵. No seu seguimento, curiosamente, a nível do SNC, também se parece verificar uma variação dos níveis de serotonina devido à influência destes metabolitos, realçando de novo a importância deste eixo^{84,86}.

As associações mencionadas demonstraram possíveis interações entre a microbiota intestinal e o transtorno do espectro autista, garantindo ao transplante de microbiota fecal uma posição de destaque como possível terapêutica a ser utilizada nesta patologia. Apesar de ainda se apresentar num estágio muito precoce de investigação, existem já alguns ensaios realizados em animais que obtiveram resultados muito positivos neste sentido. Em fevereiro de 2020, Chen K. e seus colaboradores realizaram uma experiência que consistia na indução de um transtorno compatível com TEA em humanos, em ratos recém-nascidos, utilizando o modelo de ativação imunitária materna. De forma sucinta, este modelo consiste na indução de um estado pró-inflamatório materno durante a gravidez, especialmente durante os períodos chave de neurodesenvolvimento fetal, eventualmente provocando o aparecimento da patologia mencionada no animal^{87,88}. Posteriormente, recorrendo a microbiota fecal humana proveniente de dadores selecionados e saudáveis, procedeu-se ao seu transplante nos animais visados, registando-se as alterações relativas ao seu comportamento. Consequentemente, verificou-se uma redução substancial de comportamentos repetitivos e demonstrativos de ansiedade. Esta experiência constitui, assim, uma possível, ainda que limitada, demonstração da eficácia desta terapêutica⁸⁸.

Depressão major

A depressão major consiste num distúrbio do foro psiquiátrico que afeta cerca de 300 milhões de pessoas em todo o mundo. Apresenta-se como uma das condições mais debilitantes da sociedade atual, sendo causa de suicídio de cerca de 800 mil pessoas anualmente⁸⁹.

Apesar da sua fisiopatologia ter sido alvo de intenso estudo e de vários avanços terem sido feitos neste sentido, ainda não estão completamente conhecidas as suas causas⁹⁰. Recentemente, possíveis ligações etiológicas com a microbiota intestinal vieram despertar todo um conjunto de novos modelos explicativos e possibilidades terapêuticas que até então estavam vedadas à ciência.

Vários trabalhos demonstraram evidências em relação à existência de interligações entre a microbiota intestinal, patologia inflamatória e depressão⁹¹⁻⁹³. Experiências com ratos, nos quais foi induzido fenótipo depressivo-*like*, através da transplantação de microbiota humana

de doentes com depressão major apresentaram sintomas de ansiedade e anedonia típicos deste distúrbio ^{94,95}. Estas alterações, porém, não se verificaram nos animais nos quais foi utilizada a microbiota de pessoas previamente saudáveis ^{94,95}.

Uma revisão sistemática realizada por Cheung reuniu 6 estudos comparando a microbiota de indivíduos saudáveis e a de indivíduos com depressão major ⁹⁶. No total, foram analisados 204 doentes e 188 controlos, tendo sido verificada uma diferença significativa entre a microbiota dos dois grupos. Entre os diversos resultados, foram destacadas diminuições de géneros bacterianos como *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* e *Ruminococcus* e elevação de *Clostridium*, *Klebsiella*, *Parabacteroides*, *Streptococcus*, *Oscillibacter* e *Alistipes* ⁹⁶. No entanto, devido a algumas diferenças nas metodologias utilizadas e a grandes variações nas características dos indivíduos participantes (ex: diferenças dietéticas geográficas/étnicas, variação genética interpessoal, diferenças comportamentais) não foi possível distinguir de forma clara e consensual todos os grupos de bactérias em maiores e menores proporções relativas entre o grupo de doentes e controlo ⁹⁶.

Neste seguimento, são propostos por diversos autores, vários mecanismos que podem explicar como estas alterações referidas podem influenciar o surgimento de depressão major. O primeiro, prende-se com o facto dos géneros bacterianos que se encontram diminuídos nesta doença, serem conhecidos por metabolizarem extensivamente carboidratos em AGCC⁹⁷⁻⁹⁹. Estes para além de servirem de fonte de energia para outras bactérias e para o hospedeiro, são também intervenientes na regulação imunológica, induzindo a diferenciação de linfócitos T¹⁰⁰ e funcionando como anti-inflamatórios ao atuarem como inibidores das histonas desacetilases¹⁰¹. Para além disso, estão ainda envolvidos na produção de neurotransmissores¹⁰² e podem atuar como neuroprotetores¹⁰³. Por outro lado, os tipos de bactérias aumentados são conhecidos por serem grandes metabolizadores de proteínas e aminoácidos transformando-os, entre outros, em produtos tóxicos como amónia e a putrescina, que, por sua vez, irão também favorecer o aumento da inflamação intestinal. Inserra e seus colaboradores ¹⁰⁴ hipotetizaram que situações de stress causadas, por exemplo, por disbiose intestinal podem levar à ativação do inflamassoma NLRP3 (recetor intracelular presente nas mais variadas células do sistema imunitário, capaz de detetar stress, perigo ou danos¹⁰⁵) que por sua vez conduz à libertação de citocinas como a interleucina-1 beta (IL1B) e o TNF- α ^{105,106}. Estas, por fim, ativam o eixo hipotalamo-hipófise-suprarenal e áreas cerebrais que respondem ao stress e que, por sua vez, desencadearão sintomas de ansiedade e depressão^{105,107,108}. Este eixo será provavelmente bidirecional pelo que a depressão poderá também levar, por si mesma, a alterações na microbiota intestinal¹⁰⁴. No geral, esta hipótese admite que o estado depressivo pode ser causado diretamente pela disbiose intestinal devido à alteração de neurotransmissores e substâncias neuroativas por

esta causadas, tendo estas sido já mencionadas noutros estudos ^{95,109,110}, ou indiretamente através da ativação do inflamassoma NLRP3 e consequente cascata inflamatória gerada ¹⁰⁴.

Apesar de promissora, a transplantação de microbiota fecal em humanos como terapêutica, nesta doença, ainda não é uma realidade aplicável. Temos, no entanto, vários indícios que esta poder vir a ser extremamente útil futuramente. Vários estudos, integrando o uso desta técnica no tratamento de infeção por *C.difficile* e doenças inflamatórias intestinais, por exemplo, revelaram uma melhoria substancial e persistente no ânimo dos doentes. Adicionalmente, estudos utilizando probióticos e prebióticos revelaram impacto significativo na saúde mental e sintomas psiquiátricos dos doentes, entre os quais sintomas depressivos¹¹¹.

Doença de Parkinson

A doença de Parkinson é uma das doenças neurodegenerativas mais comuns, estimando-se afetar mais de 3 milhões de pessoas em todo o mundo¹¹². Dois dos principais mecanismos conhecidos causadores desta doença, consistem na perda de atividade neuronal dopaminérgica na substância *nigra* e na acumulação de corpos de *Lewis* no interior dos neurónios ³. Os corpos de *Lewis* são constituídos pela proteína α -sinucleína ³. Relativamente aos sintomas/sinais, estes variam entre motores e não motores, sendo que, dentro do primeiro grupo, alguns dos mais característicos consistem no tremor, bradicinesia, instabilidade postural, quedas, discinesia e rigidez muscular. Entre os não motores destacam-se a disfagia, salivação excessiva, obstipação, incontinência urinária, anosmia, disartria, distúrbios psiquiátricos e depressão. Atualmente, as opções terapêuticas disponíveis variam entre médicas e cirúrgicas. Dentro das médicas destacam-se a levodopa-carbidopa, agonistas dos recetores da dopamina e inibidores da monoamina oxidase, todas estas com o objetivo de aumentar os níveis de dopamina, potenciar o seu efeito ou inibir a sua degradação. As terapêuticas cirúrgicas estão reservadas para casos refratários tendo, no entanto, ganho bastante relevância desde o início da aplicação da estimulação cerebral profunda. Esta técnica consiste na implantação de elétrodos em certas áreas do cérebro, como os núcleos subtalâmicos, e, através do uso de um pacemaker, são gerados impulsos estimulando estes elétrodos. Por sua vez, estes vão bloquear os sinais provenientes das áreas cerebrais onde estão implantados, melhorando assim, em grande escala, a sintomatologia física desta doença¹¹³.

No entanto, para além de apresentarem imensos efeitos adversos, nenhuma destas terapêuticas conseguiu, de facto, alterar a história natural da DP ¹¹⁴.

Durante os últimos anos, devido ao aparecimento de novos estudos que demonstram uma relação entre Sistema Nervoso Central, Sistema Nervoso Entérico e disbiose da microbiota intestinal, terapêuticas como o transplante de microbiota intestinal afiguraram-se possíveis³.

Neste contexto, a inflamação passou a ter um destaque fulcral nesta patologia. Acredita-se que, na base da degradação de neurónios dopaminérgicos, está o stress oxidativo e a toxicidade mediada por citocinas pró-inflamatórias¹¹⁵. Sendo a glutatião peroxidase uma enzima fulcral na proteção neuronal contra o stress oxidativo e encontrando-se esta exclusivamente nas células gliais, uma desregulação a nível destas células gliais poderá estar na base da fisiopatologia desta doença¹¹⁵.

Forsyth e seus colaboradores realizaram uma importante experiência onde avaliaram, em 9 doentes com DP, a permeabilidade intestinal a bactérias com atividade pró-inflamatória e a produtos do seu metabolismo, nomeadamente, endotoxinas (ex: LPS) através de biópsias intestinais e recurso à imunohistoquímica¹¹⁶. Verificou-se que, para além de um aumento dos dois parâmetros anteriormente mencionados, houve um aumento anormal do stress oxidativo (avaliado pelo nível de nitrotirosina) e uma acumulação exagerada de α -sinucleína no interior neurónios entéricos¹¹⁶. Este estudo, permitiu formular a hipótese de que uma desregulação da permeabilidade intestinal, causada, por exemplo, por alterações da sua microbiota, poderia levar à acumulação de endotoxinas e, como consequência, aumentar o stress oxidativo que, por sua vez, aumentaria os níveis de α -sinucleína nos neurónios entéricos³.

Se a esta hipótese for adicionada a teoria de Braak que afirma que a α -sinucleína propagar-se-á por via vagal, de maneira *prião-like*, até ao SNC, onde se acumula sobre a forma de corpos de Lewy, torna possível recriar uma explicação etiológica desta patologia, conectando o intestino e o SNC^{117,118}. Reforçando esta hipótese, foi demonstrado em animais que é, de facto, possível a propagação de α -sinucleína desde o intestino até ao cérebro através de um transporte neuronal associado a micrótubulos^{119,120}. Tendo como base este conhecimento, em 2015, foi concebido um estudo retrospectivo comparando a incidência da DP em pessoas sujeitas a vagotomia truncal (n=5339) com amostras da população geral (n=66711). Este estudo revelou uma significativa diminuição da incidência da doença parkinsoniana em pessoas sujeitas à cirurgia¹²¹.

Existem, no entanto, outros fatores que apontam para possíveis formas de interação alternativas entre o estado disbiótico intestinal e a DP. A existência de uma rede de vasos linfáticos que contacta com o SNC, onde podem circular os resultantes da resposta inflamatória gerada pela alteração da microbiota intestinal, poderá constituir uma possível via de comunicação cérebro-intestino a ser explorada em futuros estudos¹²². Para além disso, está demonstrado que a disbiose intestinal pode levar à ativação de TLR, entre os quais o

TLR4, que interage com as células gliais, levando à incorporação neuronal desmedida de α -sinucleína¹²³. Por último, a alteração da microbiota intestinal pode ainda levar a um aumento de AGCC que, por sua vez, levará à diminuição de produção de neurotransmissores e aumento de IL-10 e TGF- β estimulando uma resposta inflamatória neuro-imune^{124,125}. Todos estes mecanismos podem estar presentes como um componente da base fisiopatológica desta doença.

Com o intuito de avaliar quais seriam as alterações específicas na microbiota intestinal em doentes com DP, Hill-Burns e seus colaboradores conduziram um estudo em 2017 com 197 doentes e 137 controlos, onde foram verificadas alterações significativas na abundância relativa das famílias bacterianas *Bifidobacteriaceae*, *Christensenellaceae*, *Tissierellaceae*, *Lachnospiraceae*, *Lactobacillaceae*, *Pasteurellaceae* e *Verrucomicrobiaceae*¹²⁶.

Sendo assim, o transplante de microbiota fecal surge, novamente, neste contexto com o objetivo de reverter a disbiose intestinal que, pelas novas evidências, poderá então estar por detrás deste tipo de patologias, tais como a doença de Parkinson. Até à data de hoje, porém, nenhum trabalho foi realizado neste sentido. No entanto, encontra-se a decorrer nos Estados Unidos da América um estudo (NCT03026231) cujo objetivo é caracterizar, mais pormenorizadamente, a microbiota intestinal em indivíduos com DP e verificar quais as suas alterações decorrentes do uso do transplante de microbiota intestinal.

Até ao momento, os únicos estudos existentes são relativos ao uso de probióticos na DP havendo, contudo, pouca unanimidade nos resultados. Neste sentido, foi demonstrado por Tantaji e colaboradores uma melhoria geral da sintomatologia Parkinsónica (avaliada pelo score MDS-UPDRS), recorrendo uso probiótico composto por *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus reuteri* e *Lactobacillus fermentum*¹²⁷.

Esclerose múltipla

A esclerose múltipla é uma doença crónica e degenerativa do sistema nervoso central. Na sua base fisiopatológica está subjacente uma infiltração do SNC de células inflamatórias, tais como linfócitos CD4+ (especialmente Th1 e Th17), CD8+, macrófagos e células *natural killer*. Estas células, ao entrarem em contacto com as células gliais aí residentes, geram um processo inflamatório, que, por sua vez, leva à sua desmielinização e neurodegeneração^{10,128}. Algumas das manifestações clínicas mais comuns são a perda de equilíbrio e motilidade, fadiga, falta de força, disfunção vesical, défices sensoriais e problemas cognitivos¹²⁹.

Atualmente, os tratamentos existentes residem essencialmente em fármacos moduladores e/ou supressores do sistema imunitário e da inflamação implicada nesta patologia¹³⁰. Entre

eles destacam-se alguns fármacos injetáveis, tais como algumas formulações de interferão β (interferão β -1a (IFN β -1a), interferão β -1b (IFN β -1b), peginterferão β -1a) e acetato de glatirâmero, ou de toma oral como o fingolimod, teriflunomide e fumarato de dimetilo. Também alguns fármacos biológicos como o natalizumab podem ser utilizados ^{10,131}.

Os recentes trabalhos que abordam a microbiota fecal como parte integrante da regulação da resposta inflamatória intestinal, demonstraram a possibilidade de existir uma relação com a fisiopatologia desta patologia. De facto, foi demonstrado que esta, para além de estar envolvida na modulação do sistema imunológico do hospedeiro e consequentemente na desmielinização autoimune, estaria também relacionada com a manutenção da integridade da barreira hematoencefálica, afetando diretamente várias células residentes do SNC ¹³²⁻¹³⁴.

Vários foram os estudos que demonstraram diferenças significativas, da microbiota intestinal de doentes com Esclerose Múltipla comparativamente à de pessoas saudáveis. Foi destacado nestes doentes um aumento relativo dos géneros bacterianos *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Mycoplana*, *Acinetobacter*, *Eggerthella*, *Dorea*, *Blautia*, *Streptococcus* e *Akkermansia* e uma diminuição de *Prevotella*, *Bacteroides*, *Parabacteroides*, *Haemophilus*, *Sutterella*, *Adlercreutzia*, *Coprobacillus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Anaerostipes* e *Faecalibacterium*. ¹³⁵⁻¹³⁷.

Algumas interações já demonstradas consistem no aumento da atividade linfocitária Th17 provocado pela maior abundância da espécie bacteriana *Streptococcus mitis* e pela diminuição do género *Prevotella*, ¹⁰; a diminuição de células T reguladoras e de citocinas anti-inflamatórias como o caso da IL-10 relacionado com a diminuição da do género *Clostridium* ^{10,132} e ainda uma elevação da atividade pró-inflamatória, devido ao aumento do género bacteriano *Akkermansia* e da sua capacidade mucolítica inerente ^{10,138}.

A eficácia do transplante de microbiota fecal em doentes com esta patologia foi demonstrada em alguns casos. Em 2011, Borody e seus colaboradores relataram uma melhoria relativamente à sintomatologia gastrointestinal e neurológica em 3 doentes com esclerose múltipla, depois de sujeitos a este procedimento ¹³⁹. Posteriormente, em 2018 Makkawi publicou um caso clínico de uma mulher de 61 anos com esclerose múltipla que, por ter realizado transplante fecal no âmbito do tratamento de uma infeção por *C.difficile*, manteve a estabilidade funcional no contexto da sua patologia neurodegenerativa por 10 anos ¹⁴⁰.

Atualmente, ainda não é conhecida com exatidão a relação entre a microbiota intestinal e a esclerose múltipla, nem qual o efeito do seu transplante no tratamento desta patologia. Contudo, estudos como NCT03262870 e NCT02580435 estão em curso, com a finalidade de proporcionar um melhor entendimento sobre esta possível relação. Simultaneamente, decorre um outro estudo (NCT03594487) cuja finalidade será perceber qual a tolerabilidade,

segurança e efeitos no sistema imunológico induzidos pela realização do transplante fecal no doente recetor com esclerose múltipla.

Cancro

O transplante da microbiota fecal afigurou-se como técnica de potencial interesse na resposta ao cancro, quando a presença de disbiose da microbiota intestinal foi considerada como fator de risco para inúmeras patologias tumorais, nomeadamente, cancro gástrico, cancro colorretal (CCR), carcinoma hepatocelular (CHC), cancro do pâncreas, cancro da mama e melanoma¹⁴¹.

Foi demonstrado em ratos que, quando transferida a microbiota de indivíduos com cancro colorretal para estes animais, era promovida a carcinogénese ¹⁴². Embora não totalmente consensual, a exposição prolongada a antibióticos foi também considerada como um fator carcinogénico para vários tipos de tumores, principalmente o cancro colorretal ¹⁴³⁻¹⁴⁵, corroborando o provável impacto da microbiota intestinal nesta patologia. Sendo assim, pensa-se existir uma forte ligação entre a produção de metabolitos tóxicos, alteração do microambiente intestinal e a conseqüente indução de vias tumorigénicas.

Importa salientar que em doentes com cancro colorretal foi detetada maior abundância relativa de algumas espécies bacterianas como *Parvimonas micra*, *Solobacterium moorei* e *Fusobacterium nucleatum* e menor de *Eubacterium ventriosum* quando comparados com indivíduos normais ¹⁴⁶.

A nível hepático, existe uma interação estrutural e funcional com o intestino através de um eixo específico denominado, eixo intestino-fígado. Este consiste numa comunicação bilateral entre estes dois órgãos mediada, principalmente, pela veia porta e pela via biliar. Apesar de ainda não haver uma evidência científica direta, que suporte a realização do transplante de microbiota fecal na terapêutica do carcinoma hepatocelular, existem inúmeros estudos que apontam este procedimento como uma potencial aplicação terapêutica em doenças hepáticas crónicas, como a esteatohepatite não alcoólica¹⁴⁷, a hepatite alcoólica¹⁴⁸ e a hepatite B crónica⁶³. Uma vez que estas doenças constituem fatores de risco para o desenvolvimento do carcinoma hepatocelular, a potencial aplicação do transplante fecal nestas patologias pode já ser vista como uma aplicação indireta na prevenção deste carcinoma¹⁴¹.

Finalmente, está também a ser estudada a possibilidade de aplicação do transplante fecal em patologias tumorais noutros órgãos, como a mama e a pele, com expectativas promissoras ¹⁴¹. Vários estudos comprovaram ainda que esta terapêutica poderá potenciar os efeitos da ciclofosfamida e anticorpos monoclonais anti-PD-1, fármacos usados no combate a várias patologias tumorais ¹⁴¹.

Conclusão

Nos últimos anos, o interesse científico pelo transplante de microbiota fecal teve um crescimento de forma exponencial, sendo cada vez mais explorado o seu potencial terapêutico. Esta técnica, que se encontra cada vez menos confinada, exclusivamente, ao tratamento de doenças gastrointestinais, como inicialmente se especulava, abrange agora outras patologias que, direta ou indiretamente, dependem da microbiota intestinal.

Até ao momento, contudo, a única indicação terapêutica formal, aplicada na prática clínica, continua a ser o tratamento de infecção por *C. difficile* com caráter de recorrência, gravidade e/ou refratariedade. Em todas as restantes patologias ainda não está reunido o conhecimento necessário para se garantir a eficácia, controlo e segurança do transplante fecal. Este conhecimento passará por perceber, em muitos casos, se os mecanismos subjacentes à alteração da microbiota são a causa da patologia, se são consequência desta ou se ambos. No caso das doenças inflamatórias intestinais, principalmente na colite ulcerosa, e síndrome do intestino irritável, é provável que o transplante de microbiota fecal venha a fazer parte, brevemente, do algoritmo terapêutico destas patologias, de acordo com os ótimos resultados obtidos nos recentes estudos.

Enquanto não forem desvendadas, qual ou quais, grupos de microorganismos estarão na base causal de uma determinada patologia, e a forma como estes interagem para a causar, transferir a microbiota de uma pessoa saudável, garante estar-se a transferir uma comunidade funcional em bloco e não apenas uma ou outra espécie bacteriana que isolada(s) pode(m) não ser funcionais. Esta, atualmente, pode ser uma das maiores vantagens do transplante fecal, comparativamente a outras terapêuticas, como a administração de probióticos ou antibióticos.

No entanto, apesar de já terem sido definidos diversos consensos e protocolos para a execução da transplantação fecal, é necessário um melhor conhecimento nesta área para permitir a delimitação de indicações precisas sobre a preparação do material fecal, método de administração e seleção do dador e recetor a serem realizadas em cada situação. Esta otimização do procedimento poderá diminuir drasticamente os efeitos adversos verificados e otimizar os resultados.

Espera-se, no futuro, que com o desenvolvimento de novas tecnologias seja possível uma caracterização da microbiota intestinal cada vez mais detalhada, permitindo que a escolha de dadores passe a ser, cada vez mais, um processo personalizado para o doente e doença em questão.

Apesar de tudo, a existência nos vários estudos de indivíduos que, apesar de baixa convergência a nível da composição microbiana da flora intestinal e dietas praticadas, se apresentam funcionalmente idênticos, leva-nos a crer que tipos de microbiota distintos conseguem desempenhar funções semelhantes, dependendo dos fatores externos a que estejam expostos. Desta complexidade interacional, conclui-se que é erróneo considerar apenas as abundâncias absolutas e relativas de cada espécie bacteriana e as suas variações em cada doença. Em estudos futuros, deverá promover-se o enfoque nas funções da microbiota como um todo e de como esta interage entre si e com os elementos externos.

“This shows that bacteria in our intestines really do affect how we interpret the world”

Gastroenterologist Kirsten Tillisch

Bibliografia:

1. Wortelboer K, Nieuwdorp M, Herrema H. Fecal microbiota transplantation beyond *Clostridioides difficile* infections. *EBioMedicine* [Internet]. 2019;44:716–29. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.05.066>
2. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep*. 2006;7(7):688–93.
3. Dutta SK, Verma S, Jain V, Surapaneni BK, Vinayek R, Phillips L, et al. Parkinson's Disease: The Emerging Role of Gut Dysbiosis, Antibiotics, Probiotics, and Fecal Microbiota Transplantation. 2019;25(3):363–76.
4. Jessica R Allegretti, Mullish BH, Kelly C, Fischer M. The evolution of the use of faecal microbiota transplantation and emerging therapeutic indications. *new Engl J Med Rev*. 2019;394(10196):420–31.
5. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajili M, Kump P, Satokari R, et al. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. 2017;66(4):569–80.
6. Dailey FE, Turse EP, Daglilar E, Tahan V. The dirty aspects of fecal microbiota transplantation: a review of its adverse effects and complications. *Curr Opin Pharmacol*. 2019;49:29–33.
7. Wang S, Xu M, Wang W, Cao X, Piao M, Khan S, et al. Systematic Review : Adverse Events of Fecal Microbiota Transplantation. *PLoS One*. 2016;11(8):1–24.
8. Wang H, Cui B, Li Q, Ding X. The Safety of Fecal Microbiota Transplantation for Crohn 's Disease : Findings from A Long-Term Study. *Adv Ther* [Internet]. 2018;35(11):1935–44. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12325-018-0800-3>
9. Vindigni SM, Surawicz CM. Fecal Microbiota Transplantation. *Gastroenterol Clin North Am* [Internet]. 2017;46(1):171–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gtc.2016.09.012>
10. Schepici G, Silvestro S, Bramanti P, Mazzon E. The Gut Microbiota in Multiple Sclerosis: An Overview of Clinical Trials. *Cell Transplant*. 2019;28(12):1507–27.
11. Fischer M, Kao D, Kelly C, Kuchipudi A, Jafri SM, Blumenkehl M, et al. Fecal Microbiota Transplantation is Safe and Efficacious for Recurrent or Refractory *Clostridium difficile* Infection in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22(10):2402–9.

12. Kassam Z, Lee CH, Yuan Y, Hunt RH. Fecal microbiota transplantation for clostridium difficile infection: Systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2013;108(4):500–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2013.59>
13. Drekonja D, Reich J, Gezahegn S, Greer N, Shaukat A, MacDonald R, et al. Fecal microbiota transplantation for clostridium difficile infection a systematic review. *Ann Intern Med*. 2015;162(9):630–8.
14. Allegretti JR, Kassam Z, Osman M, Budree S, Fischer M, Kelly CR. The 5D framework: a clinical primer for fecal microbiota transplantation to treat *Clostridium difficile* infection. *Gastrointest Endosc* [Internet]. 2018;87(1):18–29. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gie.2017.05.036>
15. Fischer M, Sipe B, Cheng YW, Phelps E, Rogers N, Sagi S, et al. Fecal microbiota transplant in severe and severe-complicated *Clostridium difficile*: A promising treatment approach. *Gut Microbes* [Internet]. 2017;8(3):289–302. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/19490976.2016.1273998>
16. Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*. 2009;361(21):2066–78.
17. Vijay-Kumar M, Sanders CJ, Taylor RT, Kumar A, Aitken JD, Sitaraman S V., et al. Deletion of TLR5 results in spontaneous colitis in mice. *J Clin Invest*. 2007;117(12):3909–21.
18. Cammarota G, Ianiro G, Cianci R, Bibbò S, Gasbarrini A, Currò D. The involvement of gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: Potential for therapy. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2015;149:191–212. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.12.006>
19. Wu XW, Ji HZ, Wang FY. Meta-analysis of ciprofloxacin in treatment of crohn's disease. *Biomed Reports*. 2015;3(1):70–4.
20. Prantera C, Lochs H, Campieri M, Scribano ML, Sturniolo GC, Castiglione F, et al. Antibiotic treatment of Crohn's disease: Results of a multicentre, double blind, randomized, placebo-controlled trial with rifaximin. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;23(8):1117–25.
21. Mardini HE, Grigorian AY. Probiotic mix VSL#3 is effective adjunctive therapy for mild to moderately active ulcerative colitis: A meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis*. 2014;20(9):1562–7.
22. Nitzan O, Elias M, Peretz A, Saliba W. Role of antibiotics for treatment of inflammatory

- bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2016;22(3):1078–87.
23. Abraham B, Quigley EMM. Antibiotics and probiotics in inflammatory bowel disease: When to use them? *Frontline Gastroenterol*. 2020;11(1):62–9.
 24. Weingarden AR, Vaughn BP. Intestinal microbiota, fecal microbiota transplantation, and inflammatory bowel disease. *Gut Microbes*. 2017;8(3):238–52.
 25. Hamilton MJ, Weingarden AR, Unno T, Khoruts A, Sadowsky MJ. High-throughput DNA sequence analysis reveals stable engraftment of gut microbiota following transplantation of previously frozen fecal bacteria. *Gut Microbes*. 2013;4(2):125–35.
 26. Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, et al. Low counts of faecalibacterium prausnitzii in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15(8):1183–9.
 27. Chassaing B, Darfeuille-michaud A. The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* [Internet]. 2011;140(6):1720–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2011.01.054>
 28. Nishida A, Inoue R, Inatomi O, Bamba S, Naito Y, Andoh A. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin J Gastroenterol* [Internet]. 2018;11(1):1–10. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12328-017-0813-5>
 29. Kobozev I, Reinoso Webb C, Furr KL, Grisham MB. Role of the enteric microbiota in intestinal homeostasis and inflammation. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2014;68:122–33. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.11.008>
 30. Lopetuso LR, Ianaro G, Allegretti JR, Bibbò S, Gasbarrini A, Scaldaferri F, et al. Fecal transplantation for ulcerative colitis: current evidence and future applications. *Expert Opin Biol Ther*. 2020;20(4):343–51.
 31. Bennet JD, Brinkman M. Treatment of Ulcerative Colitis By Implantation of Normal Colonic Flora. *Lancet*. 1989;333(8630):164.
 32. Rossen NG, Fuentes S, Van Der Spek MJ, Tijssen JG, Hartman JHA, Duflo A, et al. Findings From a Randomized Controlled Trial of Fecal Transplantation for Patients With Ulcerative Colitis. *Gastroenterology* [Internet]. 2015;149(1):110-118.e4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2015.03.045>
 33. Paramsothy S, Kamm MA, Kaakoush NO, Walsh AJ, van den Bogaerde J, Samuel D, et al. Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* [Internet]. 2017;389(10075):1218–28.

Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30182-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30182-4)

34. Paramsothy S, Paramsothy R, Rubin DT, Kamm MA, Kaakoush NO, Mitchell HM, et al. Faecal Microbiota Transplantation for Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Crohn's Colitis*. 2017;11(10):1180–1199.
35. Costello SP, Andrews JM, Bryant WSR V, Jairath V, Hart AL. Systematic review with meta-analysis : faecal microbiota transplantation for the induction of remission for active ulcerative colitis. 2017;46(3):213–24.
36. Narula N, Kassam Z, Yuan Y, Colombel J. Systematic Review and Meta-analysis : Fecal Microbiota Transplantation for Treatment of Active Ulcerative Colitis. 2017;23(10):1702–9.
37. Imdad A, Nicholson MR, Tanner-Smith EE, Zackular JP, Gomez-Duarte OG, Beaulieu DB, et al. Fecal transplantation for treatment of inflammatory bowel disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;11:1–11.
38. Costello SP, Hughes PA, Waters O, Bryant R V., Vincent AD, Blatchford P, et al. Effect of Fecal Microbiota Transplantation on 8-Week Remission in Patients with Ulcerative Colitis: A Randomized Clinical Trial. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2019;321(2):156–64.
39. Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onischi C, et al. Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology [Internet]*. 2015;149(1):102-109.e6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2015.04.001>
40. Gordon H, Harbord M. A patient with severe Crohn's colitis responds to Faecal Microbiota Transplantation. *J Crohn's Colitis [Internet]*. 2014;8(3):256–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.crohns.2013.10.007>
41. Vaughn BP, Vatanen T, Allegretti JR, Bai A, Xavier RJ, Korzenik J, et al. Increased Intestinal Microbial Diversity Following Fecal Microbiota Transplant for Active Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2016;22(9):2182–90.
42. Gutin L, Piceno Y, Fadrosch D, Lynch K, Zydek M, Kassam Z, et al. Fecal microbiota transplant for Crohn disease : A study evaluating safety , efficacy , and microbiome profile. 2019;7(6):807–14.
43. Malikowski T, Khanna S, Pardi DS. Fecal microbiota transplantation for gastrointestinal disorders. 2017;33(1):8–13.
44. Is fecal microbiota transplantation (FMT) an effective treatment for patients with

- functional gastrointestinal disorders (FGID)? 2015;27(1):19–29.
45. Holvoet T, Joossens M, Wang J, Boelens J, Verhasselt B, Laukens D, et al. Assessment of faecal microbial transfer in irritable bowel syndrome with severe bloating. 2017;66(5):980–2.
 46. Mazzawi T, Lied GA, Sangnes DA, El-Salhy M, Hov JR, Gilja OH, et al. The kinetics of gut microbial community composition in patients with irritable bowel syndrome following fecal microbiota transplantation. PLoS One. 2018;13(11):1–17.
 47. Borody T, Fischer M, Mitchell S, Campbell J, Borody T, Fischer M, et al. Fecal microbiota transplantation in gastrointestinal disease: 2015 update and the road ahead. Expert Rev Gastroenterol Hepatol [Internet]. 2015;9(11):1379–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1586/17474124.2015.1086267>
 48. Shen T-CD, Albenberg L, Bittinger K, Chehoud C, Chen Y-Y, Judge C, et al. Engineering the gut microbiota to treat hyperammonemia. J Clin Invest. 2015;125(7):2841–50.
 49. Bajaj JS, Kassam Z, Fagan A, Gavis EA, Liu E, Cox IJ, et al. Fecal microbiota transplant from a rational stool donor improves hepatic encephalopathy: A randomized clinical trial. Hepatology. 2017;66(6):1727–38.
 50. Bajaj JS, Fagan A, Gavis EA, Kassam Z, Sikaroodi M, Gillevet PM. Long-term Outcomes of Fecal Microbiota Transplantation in Patients With Cirrhosis. Gastroenterology [Internet]. 2019;156(6):1921-1923.e3. Available from: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.01.033>
 51. Lazaridis KN, LaRusso NF. Primary sclerosing cholangitis. N Engl J Med. 2016 Jul;375(12):1161–70.
 52. Kummen M, Holm K, Anmarkrud JA, Nygård S, Vesterhus M, Høivik ML, et al. The gut microbial profile in patients with primary sclerosing cholangitis is distinct from patients with ulcerative colitis without biliary disease and healthy controls. Gut. 2017;66(4):611–9.
 53. Sabino J, Vieira-Silva S, Machiels K, Joossens M, Falony G, Ballet V, et al. Primary sclerosing cholangitis is characterised by intestinal dysbiosis independent from IBD. Gut. 2016;65(10):1681–9.
 54. Mueller T, Beutler C, Picó AH, Shibolet O, Pratt DS, Pascher A, et al. Enhanced innate immune responsiveness and intolerance to intestinal endotoxins in human biliary epithelial cells contributes to chronic cholangitis. 2011;31(10):1574–88.

55. Philips CA, Augustine P, Phadke N. Healthy Donor Fecal Microbiota Transplantation for Recurrent Bacterial Cholangitis in Primary Sclerosing Cholangitis – A Single Case Report. *J Clin Transl Hepatol*. 2018;6(4):438–41.
56. Allegretti JR, Kassam Z, Carrellas M, Mullish BH, Marchesi JR, Pechlivanis A, et al. Fecal Microbiota Transplantation in Patients With Primary Sclerosing Cholangitis: A Pilot Clinical Trial. *Am J Gastroenterol*. 2019;114(7):1071–9.
57. WHO. Obesity and overweight. 2020.
58. Scheithauer TPM, Dallinga-Thie GM, de Vos WM, Nieuwdorp M, van Raalte DH. Causality of small and large intestinal microbiota in weight regulation and insulin resistance. *Mol Metab* [Internet]. 2016;5(9):759–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmet.2016.06.002>
59. Duranti S, Ferrario C, van Sinderen D, Ventura M, Turrone F. Obesity and microbiota: An example of an intricate relationship. *Genes Nutr*. 2017;12(1):1–15.
60. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science* (80-). 2013;341(6150):1241214.
61. Kootte RS, Levin E, Salojärvi J, Smits LP, Hartstra A V., Udayappan SD, et al. Improvement of Insulin Sensitivity after Lean Donor Feces in Metabolic Syndrome Is Driven by Baseline Intestinal Microbiota Composition. *Cell Metab*. 2017;26(4):611-619.e6.
62. Saad MJA, Santos A, Prada PO. Linking gut microbiota and inflammation to obesity and insulin resistance. *Physiology*. 2016;31(4):283–93.
63. Ren YD, Ye ZS, Yang LZ, Jin LX, Wei WJ, Deng YY, et al. Fecal microbiota transplantation induces hepatitis B virus e-antigen (HBeAg) clearance in patients with positive HBeAg after long-term antiviral therapy. *Hepatology*. 2017;65(5):1765–8.
64. Schmidt C. Mental Health: Thinking from the Gut. *Nat Publ Gr* [Internet]. 2015;312(3):s12–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/scientificamerican0315-s12>
65. Arentsen T, Raith H, Qian Y, Forssberg H, Heijtz RD. Host microbiota modulates development of social preference in mice. *Microb Ecol Heal Dis*. 2015;26.
66. Braniste V, Al-Asmakh M, Kowal C, Anuar F, Abbaspour A, Tóth M, et al. The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. *Sci Transl Med*.

- 2014;6(263):1–12.
67. Bercik P, Denou E, Collins J, Jackson W, Lu J, Jury J, et al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice. *Gastroenterology*. 2011;141(2):599–609.
 68. Crumeyrolle-Arias M, Jaglin M, Bruneau A, Vancassel S, Cardona A, Daugé V, et al. Absence of the gut microbiota enhances anxiety-like behavior and neuroendocrine response to acute stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2014;42:207–17.
 69. Yarandi SS, Peterson DA, Treisman GJ, Moran TH, Pasricha PJ. Modulatory effects of gut microbiota on the central nervous system: How gut could play a role in neuropsychiatric health and diseases. *J Neurogastroenterol Motil*. 2016;22(2):201–12.
 70. Chen X, D'Souza R, Hong ST. The role of gut microbiota in the gut-brain axis: Current challenges and perspectives. *Protein Cell*. 2013;4(6):403–14.
 71. Bagga D, Reichert JL, Koschutnig K, Aigner CS, Holzer P, Koskinen K, et al. Probiotics drive gut microbiome triggering emotional brain signatures. *Gut Microbes*. 2018;9(6):486–96.
 72. Lefter R, Ciobica A, Timofte D, Stanciu C, Trifan A. A descriptive review on the prevalence of gastrointestinal disturbances and their multiple associations in autism spectrum disorder. *Med*. 2020;56(1).
 73. McElhanon BO, McCracken C, Karpen S, Sharp WG. Gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorder: A meta-analysis. *Pediatrics*. 2014;133(5):872–83.
 74. Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, Buchanan CP, Maxwell AP, Väisänen ML, et al. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. *J Child Neurol*. 2000;15(7):429–35.
 75. Wimberley T, Agerbo E, Pedersen CB, Dalsgaard S, Horsdal HT, Mortensen PB, et al. Otitis media, antibiotics, and risk of autism spectrum disorder. *Autism Res*. 2018;11(10):1432–40.
 76. Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, Liu C, Henley KE, Wolcott RD, et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe* [Internet]. 2010;16(4):444–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.06.008>
 77. MacFabe DF, Cain DP, Rodriguez-Capote K, Franklin AE, Hoffman JE, Boon F, et al. Neurobiological effects of intraventricular propionic acid in rats: Possible role of short

- chain fatty acids on the pathogenesis and characteristics of autism spectrum disorders. *Behav Brain Res.* 2007;176(1):149–69.
78. Kang DW, Park JG, Ilhan ZE, Wallstrom G, LaBaer J, Adams JB, et al. Reduced Incidence of *Prevotella* and Other Fermenters in Intestinal Microflora of Autistic Children. *PLoS One.* 2013;8(7).
 79. Saurman V, Margolis KG, Luna RA. Autism Spectrum Disorder as a Brain-Gut-Microbiome Axis Disorder. *Dig Dis Sci* [Internet]. 2020;65(3):818–28. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06133-5>
 80. Altieri L, Neri C, Sacco R, Curatolo P, Benvenuto A, Muratori F, et al. Urinary p-cresol is elevated in small children with severe autism spectrum disorder. *Biomarkers.* 2011;16(3):252–60.
 81. Wang L, Christophersen CT, Sorich MJ, Gerber JP, Angley MT, Conlon MA. Increased abundance of *Sutterella* spp. and *Ruminococcus torques* in feces of children with autism spectrum disorder. *Mol Autism* [Internet]. 2013;4(42). Available from: *Molecular Autism*
 82. Strati F, Cavalieri D, Albanese D, De Felice C, Donati C, Hayek J, et al. New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. *Microbiome.* 2017;5(1):1–11.
 83. Reigstad CS, Salmons CE, Rainey JF, Szurszewski JH, Linden DR, Sonnenburg JL, et al. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells. *FASEB J.* 2015;29(4):1395–403.
 84. Yano JM, Yu K, Donaldson GP, Shastri GG, Ann P, Ma L, et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell* [Internet]. 2015;161(2):264–76. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.047>
 85. Marler S, Ferguson BJ, Lee EB, Peters B, Williams KC, McDonnell E, et al. Brief Report: Whole Blood Serotonin Levels and Gastrointestinal Symptoms in Autism Spectrum Disorder. *J Autism Dev Disord.* 2016;46(3):1124–30.
 86. Clarke G, Grenham S, Scully P, Fitzgerald P, Moloney RD, Shanahan F, et al. The microbiome-gut-brain axis during early life regulates the hippocampal serotonergic system in a sex-dependent manner. *Mol Psychiatry.* 2013;18(6):666–73.
 87. Lammert CR, Lukens JR. *Mouse Models of Innate Immunity.* Second. Allen IC, editor. New York: Humana Press; 2019. 227–236 p.
 88. Chen K, Fu Y, Wang Y, Liao L, Xu H, Zhang A, et al. Therapeutic Effects of the In Vitro

- Cultured Human Gut Microbiota as Transplants on Altering Gut Microbiota and Improving Symptoms Associated with Autism Spectrum Disorder. *Microb Ecol* [Internet]. 2020; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32100127>
89. WHO. Depression and Other Common Mental Disorders - Global Health Estimates. Geneva: World Health Organization. 2017;1–24.
 90. Dean J, Keshavan M. The neurobiology of depression: An integrated view. *Asian J Psychiatr* [Internet]. 2017;27:101–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajp.2017.01.025>
 91. Maes M, Kubera M, Leunis JC. The gut-brain barrier in major depression: intestinal mucosal dysfunction with an increased translocation of LPS from gram negative enterobacteria (leaky gut) plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression. *Neuro Endocrinol Lett*. 2008;29(1):117–24.
 92. Maes M, Kubera M, Leunis JC, Berk M. Increased IgA and IgM responses against gut commensals in chronic depression: Further evidence for increased bacterial translocation or leaky gut. *J Affect Disord* [Internet]. 2012;141(1):55–62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jad.2012.02.023>
 93. Maes M, Kubera M, Leunis JC, Berk M, Geffard M, Bosmans E. In depression, bacterial translocation may drive inflammatory responses, oxidative and nitrosative stress (O&NS), and autoimmune responses directed against O&NS-damaged neopeptides. *Acta Psychiatr Scand*. 2013;127(5):344–54.
 94. Kelly JR, Borre Y, Aidi S El, Deane J, Patterson E, Kennedy PJ, et al. Transferring the blues: depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. *Eur Neuropsychopharmacol* [Internet]. 2016;26:S85–6. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-977X\(16\)70091-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-977X(16)70091-5)
 95. Zheng P, Zeng B, Zhou C, Liu M, Fang Z, Xu X, et al. Gut microbiome remodeling induces depressive-like behaviors through a pathway mediated by the host's metabolism. *Mol Psychiatry*. 2016;21(6):786–96.
 96. Cheung SG, Goldenthal AR, Uhlemann AC, Mann JJ, Miller JM, Sublette ME. Systematic review of gut microbiota and major depression. *Front Psychiatry*. 2019;10(34):1–17.
 97. Khoroshkin MS, Leyn SA, Van Sinderen D, Rodionov DA. Transcriptional regulation of carbohydrate utilization pathways in the *Bifidobacterium* genus. *Front Microbiol*. 2016;7(120):1–14.

98. Chung WSF, Meijerink M, Zeuner B, Holck J, Louis P, Meyer AS, et al. Prebiotic potential of pectin and pectic oligosaccharides to promote anti-inflammatory commensal bacteria in the human colon. *FEMS Microbiol Ecol.* 2017;93(11):1–9.
99. Morais S, David Y Ben, Bensoussan L, Duncan SH, Koropatkin NM, Martens EC, et al. Enzymatic profiling of cellulosomal enzymes from the human gut bacterium, *Ruminococcus champanellensis*, reveals a fine-tuned system for cohesin-dockerin recognition. *Environ Microbiol.* 2016;18(2):542–56.
100. Haghikia A, Jörg S, Duscha A, Berg J, Manzel A, Waschbisch A, et al. Dietary Fatty Acids Directly Impact Central Nervous System Autoimmunity via the Small Intestine. *Immunity.* 2016;43(4):951–3.
101. Zimmerman MA, Singh N, Martin PM, Thangaraju M, Ganapathy V, Waller JL, et al. Butyrate suppresses colonic inflammation through HDAC1-dependent fas upregulation and fas-mediated apoptosis of T cells. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol.* 2012;302(12):G1405-15.
102. DeCastro M, Nankova BB, Shah P, Patel P, Mally P V., Mishra R, et al. Short chain fatty acids regulate tyrosine hydroxylase gene expression through a cAMP-dependent signaling pathway. *Mol Brain Res.* 2005;142(1):28–38.
103. Wu X, Chen PS, Dallas S, Wilson B, Block ML, Wang CC, et al. Histone deacetylase inhibitors up-regulate astrocyte GDNF and BDNF gene transcription and protect dopaminergic neurons. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2008;11(8):1123–34.
104. Inserra A, Rogers GB, Licinio J, Wong ML. The Microbiota-Inflammasome Hypothesis of Major Depression. *BioEssays.* 2018;40(9):1–11.
105. Fleshner M, Frank M, Maier SF. Danger Signals and Inflammasomes: Stress-Evoked Sterile Inflammation in Mood Disorders. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2017;42(1):36–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2016.125>
106. Nguyen KT, Deak T, Owens SM, Kohno T, Fleshner M, Watkins LR, et al. Exposure to acute stress induces brain interleukin-1 β protein in the rat. *J Neurosci.* 1998;18(6):2239–46.
107. Licinio J, Wong ML, Gold PW. Localization of interleukin-1 receptor antagonist mRNA in rat brain. *Endocrinology.* 1991;129(1):562–4.
108. Wong ML, Bongiorno PB, Rettrori V, Mccann SM, Licinio J. Interleukin (IL) 1 β , IL-1 receptor antagonist, IL-10, and IL-13 gene expression in the central nervous system and anterior pituitary during systemic inflammation: Pathophysiological implications.

- Proc Natl Acad Sci U S A. 1997;94(1):227–32.
109. Rogers GB, Keating DJ, Young RL, Wong ML, Licinio J, Wesselingh S. From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: Mechanisms and pathways. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2016;21(6):738–48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/mp.2016.50>
 110. Lach G, Schellekens H, Dinan TG, Cryan JF. Anxiety, Depression, and the Microbiome: A Role for Gut Peptides. *Neurotherapeutics*. 2018;15(1):36–59.
 111. Akkasheh G, Kashani-Poor Z, Tajabadi-Ebrahimi M, Jafari P, Akbari H, Taghizadeh M, et al. Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition* [Internet]. 2016;32(3):315–20. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.nut.2015.09.003>
 112. Tysnes OB, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease. *J Neural Transm*. 2017;124(8):901–5.
 113. Okun MS. Deep-brain stimulation for Parkinson's disease. *N Engl J Med*. 2012;367(16):1529–38.
 114. Rascol O, Payoux P, Ory F, Ferreira JJ, Brefel-Courbon C, Montastruc JL, et al. Limitations of current Parkinson's disease therapy. *Ann Neurol*. 2003;53(3):S3-12.
 115. Damier P, Hirsch EC, Zhang P, Agid Y, Javoy-Agid F. Glutathione peroxidase, glial cells and Parkinson's disease. *Neuroscience*. 1993;52(1):1–6.
 116. Forsyth CB, Shannon KM, Kordower JH, Voigt RM, Shaikh M, Jaglin JA, et al. Increased intestinal permeability correlates with sigmoid mucosa alpha-synuclein staining and endotoxin exposure markers in early Parkinson's disease. *PLoS One*. 2011;6(12):e28032.
 117. Braak H, Del Tredici K. Potential pathways of abnormal tau and α -synuclein dissemination in sporadic Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2016;8(11):1–24.
 118. Braak H, De Vos RAI, Bohl J, Del Tredici K. Gastric α -synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neurosci Lett*. 2006;396(1):67–72.
 119. Ulusoy A, Rusconi R, Pérez-Revuelta BI, Musgrove RE, Helwig M, Winzen-Reichert B, et al. Caudo-rostral brain spreading of α -synuclein through vagal connections. *EMBO*

- Mol Med. 2013;5(7):1051–9.
120. Holmqvist S, Chutna O, Bousset L, Aldrin-Kirk P, Li W, Björklund T, et al. Direct evidence of Parkinson pathology spread from the gastrointestinal tract to the brain in rats. *Acta Neuropathol.* 2014;128(6):805–20.
 121. Svensson E, Horváth-Puhó E, Thomsen RW, Djurhuus JC, Pedersen L, Borghammer P, et al. Vagotomy and subsequent risk of Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2015;78(4):522–9.
 122. Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, Eccles JD, Rouhani SJ, Peske JD, et al. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature.* 2015;523(7560):337–41.
 123. Fellner L, Irschick R, Schanda K, Reindl M, Klimaschewski L, Poewe W, et al. Toll-like receptor 4 is required for α -synuclein dependent activation of microglia and astroglia. *Glia.* 2013;61(3):349–60.
 124. Schulman TG, Samlal-Soedhoe RS, van der Weerd J. Toward a systematic classification of textile damages. *Forensic Sci Rev.* 2018;30(1):51–75.
 125. Larraufie P, Doré J, Lapaque N, Blottière HM. TLR ligands and butyrate increase Pyy expression through two distinct but inter-regulated pathways. *Cell Microbiol.* 2017;19(2).
 126. Hill-Burns EM, Debelius JW, Morton JT, Wissemann WT, Lewis MR, Wallen ZD, et al. Parkinson's disease and Parkinson's disease medications have distinct signatures of the gut microbiome. *Mov Disord.* 2017;32(5):739–49.
 127. Tamtaji OR, Taghizadeh M, Daneshvar Kakhaki R, Kouchaki E, Bahmani F, Borzabadi S, et al. Clinical and metabolic response to probiotic administration in people with Parkinson's disease: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr.* 2019;38(3):1031–5.
 128. Frohman EM, Racke MK, Raine CS. Multiple sclerosis - The plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med.* 2006;354(9):942–55.
 129. Feinstein A, Freeman J, Lo AC. Treatment of progressive multiple sclerosis: What works, what does not, and what is needed. *Lancet Neurol* [Internet]. 2015;14(2):194–207. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70231-5](http://dx.doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70231-5)
 130. Carrithers MD. Update on disease-modifying treatments for multiple sclerosis. *Clin Ther* [Internet]. 2014;36(12):1938–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinthera.2014.08.006>

131. Hart FM, Bainbridge J. Current and emerging treatment of multiple sclerosis. *Am J Manag Care*. 2016;22(6):s159–70.
132. Atarashi K, Tanoue T, Oshima K, Suda W, Nagano Y, Nishikawa H, et al. Treg induction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota. *Nature*. 2013;500(7461):232–6.
133. Kadowaki A, Saga R, Lin Y, Sato W, Yamamura T. Gut microbiota-dependent CCR9+ CD4+ T cells are altered in secondary progressive multiple sclerosis. *Brain*. 2019;142(4):916–31.
134. Atarashi K, Tanoue T, Shima T, Imaoka A, Kuwahara T, Momose Y, et al. Induction of Colonic Regulatory T Cells by Indigenous Clostridium Species. *Science (80-)* [Internet]. 2011;331:337–41. Available from: <http://stke.sciencemag.org/cgi/content/abstract/sci;331/6015/337>
135. Cosorich I, Dalla-Costa G, Sorini C, Ferrarese R, Messina MJ, Dolpady J, et al. High frequency of intestinal TH17 cells correlates with microbiota alterations and disease activity in multiple sclerosis. *Sci Adv*. 2017;3(7):1–9.
136. Jangi S, Gandhi R, Cox LM, Li N, Von Glehn F, Yan R, et al. Alterations of the human gut microbiome in multiple sclerosis. *Nat Commun*. 2016;7:1–11.
137. Miyake S, Kim S, Suda W, Oshima K, Nakamura M, Matsuoka T, et al. Dysbiosis in the gut microbiota of patients with multiple sclerosis, with a striking depletion of species belonging to clostridia XIVa and IV clusters. *PLoS One*. 2015;10(9):1–16.
138. Derrien M, Van Baarlen P, Hooiveld G, Norin E, Müller M, de Vos WM. Modulation of mucosal immune response, tolerance, and proliferation in mice colonized by the mucin-degrader *Akkermansia muciniphila*. *Front Microbiol*. 2011;2(166):1–14.
139. Borody T, Leis S, Campbell J, Torres M, Nowak A. Fecal Microbiota transplantation (FMT) in Multiple sclerosis (Ms). *Am J Gastroenterol*. 2011;106:S352.
140. Makkawi S, Camara-Lemarroy C, Metz L. Fecal microbiota transplantation associated with 10 years of stability in a patient with SPMS. *Neurol Neuroimmunol NeuroInflammation*. 2018;5(4):1–4.
141. Chen D, Wu J, Jin D, Wang B, Cao H. Fecal microbiota transplantation in cancer management: Current status and perspectives. *Int J Cancer*. 2019;145(8):2021–31.
142. Wong SH, Zhao L, Zhang X, Nakatsu G, Han J, Xu W, et al. Gavage of Fecal Samples From Patients With Colorectal Cancer Promotes Intestinal Carcinogenesis in Germ-

- Free and Conventional Mice. *Gastroenterology* [Internet]. 2017;153(6):1621–1633.e6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2017.08.022>
143. Boursi B, Mamtani R, Haynes K, Yang YX. Recurrent antibiotic exposure may promote cancer formation-Another step in understanding the role of the human microbiota? *Eur J Cancer* [Internet]. 2015;51(17):2655–64. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2015.08.015>
 144. Dik VK, van Oijen MGH, Smeets HM, Siersema PD. Frequent Use of Antibiotics Is Associated with Colorectal Cancer Risk: Results of a Nested Case–Control Study. *Dig Dis Sci*. 2015;61(1):255–64.
 145. Cao Y, Wu K, Mehta R, Drew DA, Song M, Lochhead P, et al. Long-term use of antibiotics and risk of colorectal adenoma. *Gut*. 2018;67(4):672–8.
 146. Yu J, Feng Q, Wong SH, Zhang D, Yi Liang Q, Qin Y, et al. Metagenomic analysis of faecal microbiome as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for colorectal cancer. *Gut*. 2017;66(1):70–8.
 147. Zhou D, Pan Q, Shen F, Cao HX, Ding WJ, Chen YW, et al. Total fecal microbiota transplantation alleviates high-fat diet-induced steatohepatitis in mice via beneficial regulation of gut microbiota. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7(1):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-01751-y>
 148. Philips CA, Phadke N, Ganesan K, Augustine P. Healthy donor faecal transplant for corticosteroid non-responsive severe alcoholic hepatitis. *BMJ Case Rep*. 2017;1–5.
 149. Choi HH, Cho YS. Fecal microbiota transplantation: Current applications, effectiveness, and future perspectives. *Clin Endosc*. 2016;49(3):257–65.