

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA APLICADA

**Probióticos para o tratamento de doenças neurológicas: uma
revisão**

BÁRBARA LISBOA NOGUEIRA

BELO HORIZONTE

2015

BÁRBARA LISBOA NOGUEIRA

**Probióticos para o tratamento de doenças neurológicas: uma
revisão**

Monografia apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Aplicada da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito para a obtenção do Grau de Especialista em Microbiologia.

Orientador: Professor Dr. Jacques Robert Nicoli

BELO HORIZONTE

2015

RESUMO

O termo microbiota intestinal refere-se à comunidade essencialmente bacteriana que reside normalmente no intestino humano e animal. Sua população supera em número as células eucariotas que formam o organismo humano adulto, em um comparativo de 10^{14} para 10^{13} UFC/g de conteúdo. Recentemente, uma nova influência da microbiota intestinal sobre o hospedeiro foi descrita e denominada de eixo microbiota-intestino-cérebro, demonstrando a existência de uma via bi-direcional, envolvendo rotas neuronais (nervo vago e sistema nervoso entérico), humorais (cortisol) e imunológicas (citocinas). Acredita-se que seu desequilíbrio pode trazer consequências para a saúde do intestino e da mente como: depressão, autismo e a encefalopatia hepática. Os probióticos são definidos como: microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem um benefício à saúde do hospedeiro. O presente trabalho mostra que a intervenção no ecossistema microbiano associado ao hospedeiro humano com a ingestão de probióticos tem grande potencial no tratamento dessas patologias.

ABSTRACT

The intestinal microbiota term refers primarily to the bacterial community that normally resides in the human or animal intestine. The population exceeds in number eukaryotic cells comprising the adult human body in a comparative 10^{14} 10^{13} CFU / g content. Recently, a new influence of the intestinal tract on the host has been described and called microflora-gut-brain axis, demonstrating the existence of one-way bi-directional involving neuronal routes (vagus nerve and enteric nervous system), humoral (cortisol) and immune (cytokine). It is believed that their imbalance may have consequences for the health of the gut and mind such as depression, autism and hepatic encephalopathy. Probiotics are defined as live

microorganisms which when administered in adequate amounts confer a benefit to the health of the host. This study shows that the intervention in the microbial ecosystem associated with the human host with probiotic intake has great potential in the treatment of these pathologies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gêneros bacterianos e seus respectivos níveis populacionais em função do local anatômico no trato gastrointestinal humano.

Figura 2. Comunicações bi-direcionais no eixo microbiota-intestino-cérebro.

Figura 3. Fisiopatologia da encefalopatia hepática.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADI-R: *Autism Diagnostic Interview-Revised*

ADOS-G: *Autism Diagnostic Observation Schedule-Generic*

AGV: Ácidos Graxos Voláteis

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

EH: Encefalopatia Hepática

EHM: Encefalopatia Hepática Mínima

GABA: Ácido γ -aminobutírico

GALT: Tecido Linfoide Associado ao Intestino

HPA: Eixo Hipotálamo-Hipófise-Adrenal

FAO: Organização para Alimentação e Agricultura das Nações Unidas

OMS: Organização Mundial de Saúde

SNC: Sistema Nervoso Central

SNE: Sistema Nervoso Entérico

TGI: Trato Gastrointestinal

TID: Transtornos Invasivos do Desenvolvimento

UFC: Unidades Formadoras de Colônia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. OBJETIVO	8
3. METODOLOGIA	9
4. LEVANTAMENTO E DISCUSSÃO DA BIBLIOGRAFIA	10
4.1 Revisão bibliográfica sobre microbiota intestinal e sistema nervoso	9
4.1.1 Generalidades	9
4.1.2 Funções	12
4.1.3 Influência sobre o sistema nervoso: o eixo intestino-cérebro	13
4.2 Distúrbios neurológicos	17
4.2.1 Depressão	17
4.2.2 Encefalopatia hepática	18
4.2.3 Autismo	21
4.3 Probióticos	24
4.3.1 Definições e aplicações	24
4.3.2 Características probióticas e micro-organismos utilizados	25
4.3.3 Utilização em distúrbios neurológicos e mecanismos de ação	26
5. CONCLUSÃO	29
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1. INTRODUÇÃO

A importância das populações de micro-organismos associadas com as superfícies (cutânea) e mucosas (respiratória, urogenital e digestiva) para a saúde do homem e dos animais é bem conhecida desde a década de 1960, mas ganhou maior impulso com a produção considerável de artigos científicos sobre o assunto no início do século XXI. Trabalhos comparando modelos animais isentos de germes (sem sua microbiota associada) com seus pares convencionais (com microbiota associada) permitiram revelar as grandes funções dessa microbiota para o hospedeiro que podem ser divididas em três grupos: a resistência à colonização, a imunomodulação e a contribuição nutricional. Na mucosa intestinal, a microbiota normal é constituída basicamente por bactérias, as autóctones e as alóctones. Estas estabelecem uma relação mutualística com o seu hospedeiro, obtendo energia através das fontes alimentares humanas e oferecendo fontes de energia como ácidos graxos voláteis e vitaminas. As bactérias ainda são grandes responsáveis pela homeostase intestinal, atuando na prevenção a infecções, na motilidade, modulação da dor e na resposta imune.

Recentemente, uma nova influência da microbiota sobre o hospedeiro foi descrita e denominada de eixo microbiota-intestino-cérebro. Esta via bidirecional envolve rotas neuronais, humorais e imunológicas e acredita-se que seu desequilíbrio pode trazer consequências para a saúde do intestino e da mente, como a depressão, autismo e a encefalopatia hepática. Assim, pesquisadores foram estimulados a avaliar a possibilidade do uso de probióticos, micro-organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem um benefício à saúde do hospedeiro, para o tratamento de algumas desordens neurológicas. A presente monografia pretende fazer um levantamento das informações mais recentes sobre o assunto.

2. OBJETIVO

Realizar um levantamento bibliográfico, analisar e compilar as informações publicadas na literatura científica sobre o uso de probióticos para o tratamento de doenças neurológicas.

3. METODOLOGIA

Essa monografia é descritiva, e usou como metodologia um levantamento bibliográfico seguida de análise da literatura no período de 1907 até 2015, utilizando para pesquisa as bases Medline, Scielo, Portal CAPES e o Acervo da Biblioteca da UFMG com as seguintes palavras chaves: Eixo Microbiota – Intestino – Cérebro, Microbiota e Sistema Nervoso, Microbiota e Depressão, Microbiota e Distúrbios Neurológicos, Probióticos.

4. LEVANTAMENTO E DISCUSSÃO DA BIBLIOGRAFIA

4.1 Revisão bibliográfica sobre microbiota intestinal e sistema nervoso

4.1.1 Generalidades da microbiota intestinal

O termo microbiota intestinal refere-se à comunidade essencialmente bacteriana que reside normalmente no intestino humano. Tal relação inicia-se a partir do nascimento, quando o bebê deixa o espaço intra-uterino e tem o seu primeiro contato com os micro-organismos oriundos, primeiramente da mãe, e mais tardiamente de alimentos e do próprio ambiente. Sua composição definitiva é obtida em torno dos dois anos de idade (Barbosa *et al.*, 2010). A colonização ocorre principalmente na mucosa intestinal podendo-se diferenciar em espécies autóctones (residentes fixas daquele nicho) e alóctones (transitórias) (Husebye *et al.*, 2001; Tlaskalová-Hogenová *et al.*, 2004). A microbiota autóctone supera em número as células eucariotas que formam o organismo humano adulto, em um comparativo de 10^{14} para 10^{13} , ou seja, dez vezes maior. Além disso, ainda possuem um genoma total (microbioma) 150 vezes maior que o humano (Tlaskalová-Hogenová *et al.*, 2004; Grenham *et al.*, 2011).

Há uma grande diversidade na comunidade bacteriana intestinal do ser humano, sendo descritas aproximadamente 1000 possíveis espécies diferentes. Apesar disso, este contingente bacteriano não ocupa o sistema digestivo de maneira uniforme (Figura 1). Em humanos encontram-se baixas concentrações no estômago, provavelmente em decorrência da condição hostil desse órgão, principalmente o baixo pH, com população entre 10^2 - 10^3 unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de conteúdo. Já no íleo, porção distal do intestino delgado, encontra-se densidade de 10^8 UFC por grama, constituída por bactérias anaeróbias obrigatórias como *Bacteroides*, *Fusobacterium* e *Clostridium* devido ao baixo potencial de oxi-redução deste microambiente. No cólon, a densidade e a variedade de espécies aumentam significativamente com mais de 400 espécies diferentes e uma densidade populacional podendo chegar a 10^{12} UFC por grama. Neste local, dadas às condições ambientais, são encontradas dois grandes grupos de bactérias: as anaeróbias obrigatórias e as anaeróbias facultativas. No primeiro grupo estão principalmente os gêneros *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Ruminococcus*, *Eubacterium*, *Clostridium* e *Fusobacterium* com densidade de aproximadamente 10^9 a 10^{10} UFC por grama em cada gênero. No segundo grupo observam-se populações menores de 10^7 a 10^8 UFC por grama, compostas principalmente por

enterobactérias, enterococos e lactobacilos (Tannock, 1995; Macpherson and Harris, 2004; Tlaskalová-Hogenová *et al.*, 2004).

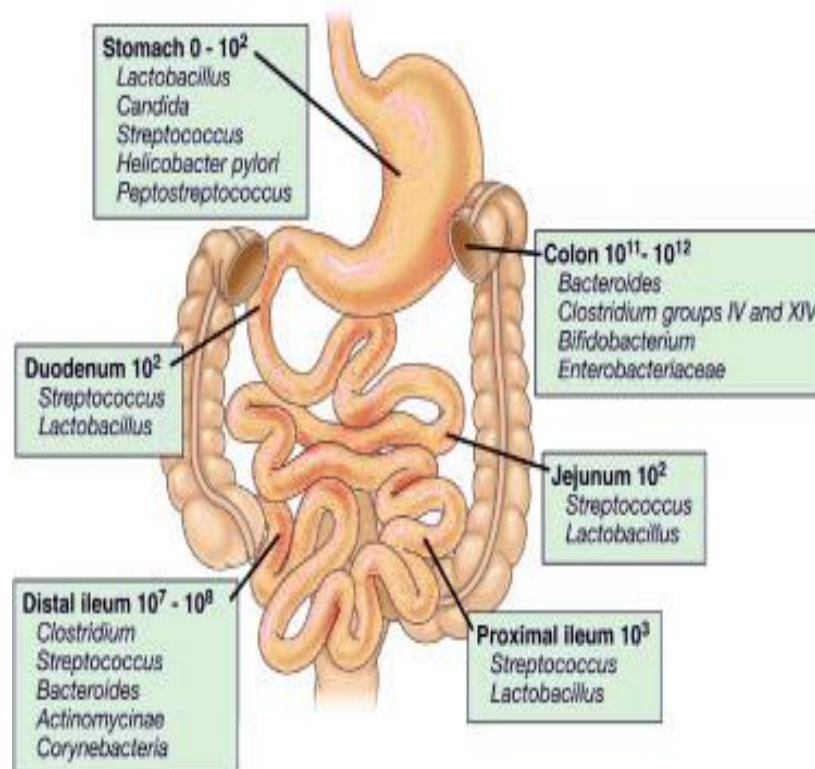


Figura 1. Gêneros bacterianos e seus respectivos níveis populacionais em função do local anatômico no trato gastrointestinal humano (Sartor, 2008).

As bactérias também são encontradas em concentrações diferentes transversalmente no TGI, podendo estar livres na luz intestinal ou associados à mucosa. No lúmen o ambiente é predominantemente anaeróbico, enquanto que na mucosa pequenas concentrações de oxigênio podem ser encontradas devido à proximidade aos tecidos, criando um ambiente microaerófilo.(Tannock, 1995).

A manutenção da comunidade bacteriana e, como consequência, a manutenção da homeostase intestinal depende de fatores como dieta, idade, interações microbianas, interações microrganismo-hospedeiro e a presença de certos genes e receptores (Tannock, 1995).

4.1.2 Funções da microbiota intestinal

Micro-organismos e hospedeiro podem desenvolver uma relação benéfica para ao menos uma das partes, como ocorre no comensalismo e na simbiose, agrupadas no que se entende por mutualismo, ou maléfica para um dos indivíduos, constituindo uma relação patogênica. Entende-se por simbiose a associação interespecífica, com benefício para uma das espécies ou para ambas. O comensalismo ocorre quando o benefício da relação não é obvio e não acarreta malefícios a nenhum dos envolvidos. Já a relação de patogenicidade implica obrigatoriamente em malefício a um dos indivíduos (Hooper and Gordon, 2001).

Em sua relação mutualística com o hospedeiro a microbiota obtém benefícios como: energia proveniente de fontes alimentares humanas e um habitat com condições físico-químicas estáveis. Em contrapartida, o hospedeiro tem nas atividades metabólicas da microbiota um fornecimento de fontes de energia (ácidos graxos voláteis) e de vitaminas (vitaminas K e do complexo B). As bactérias ainda protegem o ambiente intestinal produzindo substâncias antagonistas e competindo por recursos nutricionais ou sítios de adesão com micro-organismos patogênicos, evitando assim infecções. Possuem ainda papel importante na manutenção da homeostase intestinal, atuando na motilidade, na modulação de dores associadas ao TGI e na resposta imune. O equilíbrio desejável entre bactéria e hospedeiro por muitas vezes é quebrado (disbiose) resultando em infecções intestinais (Macpherson e Harris, 2004; Rhee *et al.*, 2009). Estudos comparativos que buscam esclarecer as diferenças fisiológicas entre animais livres de contato com micro-organismos (*germ-free*) e animais com microbiota normal mostram que a microbiota tem papel fundamental no desenvolvimento da resposta imune e na formação do repertório imunológico no trato gastro-intestinal (TGI). Sem microbiota, o desenvolvimento do tecido linfóide associado ao intestino (GALT) se torna prejudicado, ocorre a diminuição da concentração de IgA, redução dos folículos da placa de Peyer em tamanho e em número, além de diminuição da área intestinal superficial (Gordon, 1959; Quigley, 2008; Grenham *et al.*, 2011)

4.1.3 Influência sobre o sistema nervoso: o eixo intestino-cérebro

A interação entre o intestino e o sistema nervoso é observada desde o século XIX. Em 1872, Charles Darwin em seu livro “A Expressão das Emoções em Homens e Animais” destacou que “A maneira pela qual as secreções do canal alimentar e outros órgãos determinados (...) são afetados por fortes emoções, é outro excelente exemplo da ação direta do sensorio nesses órgãos, independentemente da vontade ou de qualquer hábito associado” (Darwin, 1872 apud Banks, 2008). Há poucas décadas o mecanismo e as funcionalidades dessas interações começaram a ser descritos. Cientistas relacionaram o eixo intestino-cérebro à saciedade e à motilidade intestinal, demonstrando a existência de uma via bi-direcional, envolvendo rotas neuronais (nervo vago e sistema nervoso entérico), humorais (cortisol) e imunológicas (citocinas) (Banks, 2008; Cryan and Dinan, 2012).

Na rota neuronal todos os componentes do sistema nervoso autônomo estão envolvidos, incluindo os nervos simpáticos, parassimpáticos e o sistema nervoso entérico (SNE). O complexo simpático tem como função o monitoramento da motilidade intestinal, da ativação imunológica e do fluxo sanguíneo. Isto se dá principalmente pelo fato de inervar as regiões vasculares do TGI e do SNE, além de locais de alta atividade imunológica como a lâmina própria e as Placa de Peyer, (Zhou and Foster, 2015).

O nervo parassimpático desempenha papel nas vias de comunicação intestino-cérebro através do nervo vago, principal componente das vias parassimpáticas e que possui atividade aferente e eferente. Dentre suas funções estão a regulação da bronquioconstrição, da frequência cardíaca e do peristaltismo intestinal. Cerca de 80% de suas fibras nervosas são sensoriais, transmitindo informações dos órgãos para o sistema nervoso central (SNC). Sobre sua relação com a microbiota, o nervo vago aferente parece se tornar ativo pela microbiota intestinal, mas essa função ainda é incerta na literatura. (Cryan and Dinan, 2012; Zhou and Foster, 2015).

O SNE, descoberto no século XIX, foi classificado como uma extensão periférica do sistema límbico localizado no SNC, alojado nas camadas do intestino, com grande número de neurônios e possuindo funções regulatórias como os reflexos peristálticos. Pelo seu tamanho e importância funcional, o SNE foi chamado de “segundo cérebro” por alguns autores (Mayer, 2011; Zhou and Foster, 2015). O SNE humano possui entre 200 a 600 milhões de neurônios, igualando-se a quantidade de neurônios na medula espinhal. A extensa rede de neurônios e a abrangência do SNE não são surpreendentes, sendo justificadas pelos desafios que este encontra no organismo. Ele interage com a maior superfície do corpo humano, a intestinal,

aproximadamente 100 vezes maior que a área da superfície da pele; com a maior população de micro-organismos comensais do corpo humano; com o sistema imune associado ao intestino, que possui dois terços de células do sistema imunológico do organismo; com mais de 20 células enteroendócrinas diferentes. (Mayer, 2011). Em sua morfologia o SNE se encontra agrupado em plexos ganglionados, dentre os quais os mais importantes são o plexo sub-mucoso (de Meissner) e o plexo mientérico (de Auerbach) que se estendem por todo o TGI, do esôfago ao ânus (Machado, 2006).

Evolutivamente observa-se que o SNE não é exclusivo de humanos. Estrutura homóloga está presente em vários representantes do reino animal como mamíferos, insetos, caramujos e pólipos marinhos. Sua origem tem sido amplamente discutida, mas acredita-se que o SNE primitivo homólogo pode ter sido incorporado ao SNC. Sugere-se que os gânglios que formam o sistema nervoso de helmintos e o cérebro de mamíferos superiores foram obtidos de um nervo entérico mais primitivo. Além disso, acredita-se que a formação do SNE pode estar relacionada com a migração de células precursoras da crista neural para diferentes regiões do intestino pelo nervo vago (Machado, 2006; Mayer, 2011; Zhou and Foster, 2015).

A comparação dos animais isentos de germes com os seus pares convencionais mostrou que na ausência de microbiota, o SNE apresenta redução dos gânglios e das fibras nervosas do plexo entérico, das contrações musculares intestinais espontâneas, da excitabilidade de neurônios aferentes, do potencial de membrana em repouso, da densidade de nervos e do número de neurônios por gânglio (Husebye *et al.*, 2001).

Na rota humoral, as células endócrinas atuam na regulação das funções do TGI através do SNE e também na regulação dos processos do SNC através de sinalizações parácrinas para vias aferentes vagais. A importância dessa sinalização parácrina vagal ainda não é claramente descrita na literatura, mas sabe-se que pode ocorrer de através de vias diferentes. A sinalização pode ocorrer devido a estímulos mecânicos prévios como pressão e estiramento da musculatura intestinal, que por sua vez podem ativar neurônios vagais e receptores padrões de reconhecimento sem ter as células enteroendócrinas como intermediárias. A sinalização também pode ocorrer por moléculas sinalizadoras como proteases, histaminas, serotonina e citocinas, que são produzidas nas Placas de Peyer pelas células do sistema imune. Essas moléculas podem ativar receptores aferentes vagais. As células enteroendócrinas participam da sinalização quando liberam neuropeptídeos e hormônios em resposta a fatores luminiais como nutrientes, toxinas ou antígenos, ativando vias vagais aferentes (Mayer, 2011).

As células enteroendócrinas compõem menos de 1% do total de células intestinais, mas ainda assim constitui o maior órgão endócrino do corpo humano com mais de 20 diferentes tipos de células descritas (Mayer, 2011).

O eixo hipotálamo-hipófise-adrenal é o núcleo central do stress no sistema endócrino. Atua regulando a secreção de cortisol através do hormônio adrenocorticotrófico. O cortisol pode afetar células imunes (incluindo a secreção de citocinas), tanto localmente no intestino como sistemicamente, também pode alterar permeabilidade intestinal e a composição de sua microbiota (Cryan and Dinan, 2012).

Na rota imunológica o sistema de defesa do hospedeiro possui papel fundamental na manutenção da homeostase intestinal devido à grande microbiota existente. Para isso, conta com 70 a 80% das células do sistema imune do corpo, localizadas no sistema linfóide associado ao intestino (Mayer, 2011). A microbiota intestinal também exerce influência sobre o sistema imune, atuando na imunomodulação do sistema inato e adaptativo. Dentre os participantes desse processo estão: GALT, células linfóides, macrófagos residentes e células dendríticas da lâmina própria. (Jandhyala *et al.*, 2015)

O sistema imune associado ao intestino conta com células M responsáveis pela captação de moléculas de origem microbiana e apresentação destas para células linfóides localizadas nas Placas de Peyer associadas. (Macpherson and Harris, 2004; Junqueira and Carneiro, 2008) Essa modulação imunológica contra antígenos patogênicos resulta em uma resposta mais rápida e eficiente do indivíduo.

A participação da microbiota na interação intestino cérebro pode ser demonstrada por vários exemplos. A microbiota intestinal pode interferir nas respostas motoras intestinais pela produção de ácidos graxos de cadeia curta ou peptídeos quimiotáticos que estimulam o SNE. Assim, o contingente microbiano torna-se fundamental para manter a homeostase, uma vez que alterações podem causar diarreias ou constipação intestinais (Rhee *et al.*, 2009). Os micro-organismos capazes de promover a motilidade intestinal podem ser *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus acidophilus*, enquanto algumas espécies de *Escherichia* são inibidoras. Os seguintes micro-organismos ainda produzem neurotransmissores: *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. produzem ácido γ -aminobutírico (GABA), um neurotransmissor inibidor no sistema nervoso central dos mamíferos; *Escherichia* spp., *Bacillus* spp. e *Saccharomyces* spp. produzem noradrenalina (Cryan and Dinan, 2012). *Bifidobacterium infantis* está associada à produção do precursor de triptofano, um aminoácido essencial que é precursor de muitos agentes biologicamente ativos, incluindo neurotransmissores (Desbonnet *et al.*, 2010; Cryan and Dinan, 2012) (Figura 3)

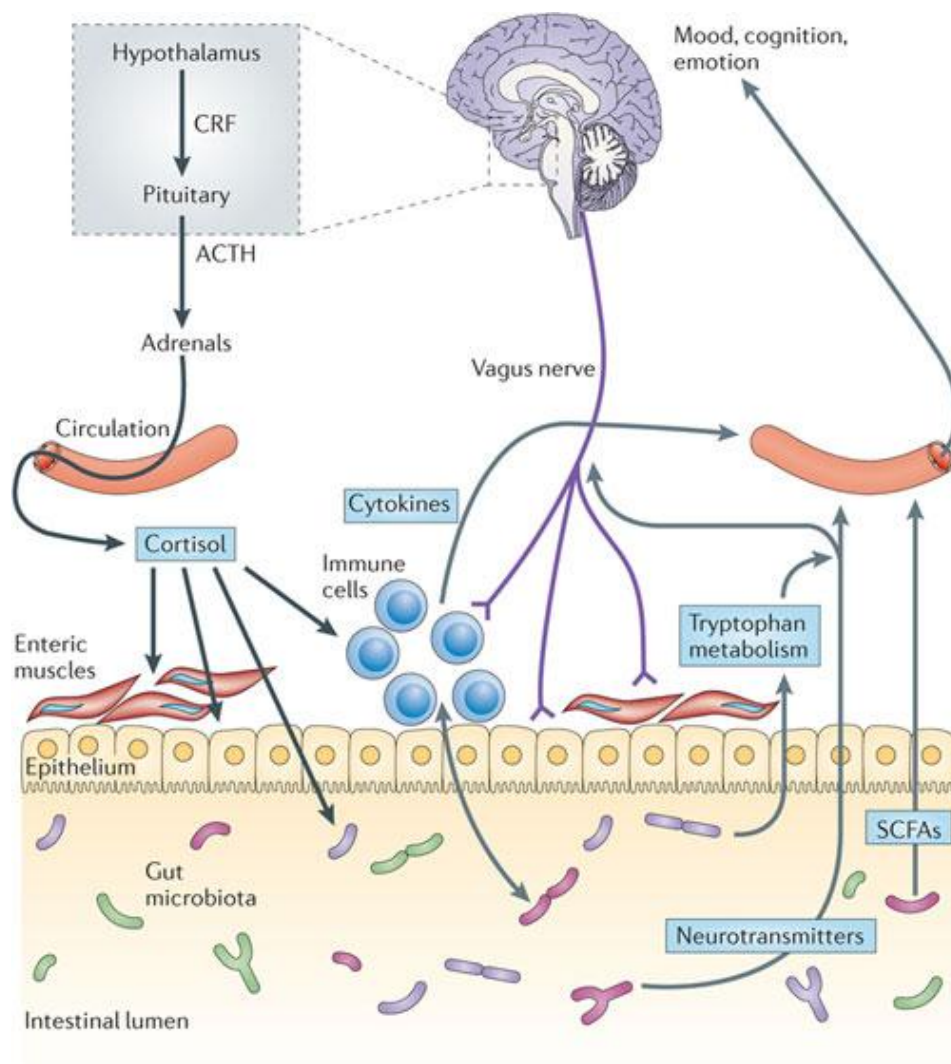


Figura 2. Comunicações bi-direcionais no eixo microbiota-intestino-cérebro (Cryan and Dinan, 2012)

O eixo microbiota-intestino-cérebro tem, portanto, grande importância na manutenção da homeostase do organismo humano. Esta homeostase está relacionada à saúde do intestino, mas também a doenças relacionadas ao humor.

4.2 Distúrbios neurológicos

Os distúrbios neurológicos são caracterizados por alterações patológicas, cognitivas e psicomotoras. São doenças que podem ocorrer em episódios únicos ou repetitivos, podendo ser súbitas ou apresentar quadro crônico, chegando a incapacitar o paciente (Neto, 2007). Entre elas, três poderiam ter alguma participação da microbiota indígena, e seriam, portanto, sujeitas a uma possível intervenção com a administração de probióticos. São elas: a depressão, e encefalopatia hepática e o autismo.

4.2.1 Depressão

A depressão é caracterizada por: humor deprimido a maior parte do dia, acentuada diminuição do prazer ou interesse em todas ou quase todas as atividades diárias, perda ou ganho significativo de peso sem estar em dieta, insônia ou hipersonia, perda de energia, capacidade cognitiva diminuída e prejuízo funcional, social entre outras. Seu diagnóstico é feito quando o paciente apresenta pelo menos cinco desses sintomas por um período mínimo de duas semanas (Neto, 2007).

Existem muitas teorias utilizadas para explicar a etiologia da depressão, dentre elas o resultado da genética ligada a fatores ambientais como a dieta e o consumo de álcool, a menor disponibilidade de aminas biogênicas cerebrais, em particular de serotonina, noradrenalina e/ou dopamina e alterações no eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA). Os fatores psicossociais estão entre os desencadeadores da depressão como, por exemplo, a perda de um familiar, de um emprego ou uma separação conjugal. A depressão não está associada a traços de personalidade predisponentes, ou seja, qualquer indivíduo está susceptível a desencadear este transtorno do humor (Neto, 2007; Vismari *et al.*, 2008; Dinan and Cryan, 2013).

Trabalhos recentes sugerem uma relação entre o eixo intestino cérebro e a depressão, levando em consideração vias como: composição da microbiota digestiva, as respostas inflamatórias, alterações no eixo HPA e nos neurotransmissores (Foster e Mcvey Neufeld, 2013). Quando a microbiota fecal é comparada entre voluntários humanos saudáveis e pacientes com depressão, os últimos apresentaram, em termos de filos, um aumento dos níveis proporcionais de Bacteroidetes, Proteobacteria e Actinobacteria enquanto houve diminuição dos Firmicutes. Essa diferença foi ainda mais marcante ao nível de famílias e gêneros, com maior aumento para *Enterobacteriaceae* e *Alistipes* e níveis reduzidos de *Faecalibacterium* (Jiang *et al.*, 2015; Joo, 2015).

Sendo o eixo HPA o núcleo central do stress no organismo, a sua desregulação é comum em pacientes com depressão, assim como a sua regulação quando o quadro depressivo é resolvido. Estudo que comparou ratos isentos de germes com ratos livres de patógenos mostrou que os primeiros apresentavam uma resposta exagerada para uma situação de estresse com corticosterona e adrenocorticotrofina, evidenciando a relação direta da microbiota com o eixo HPA (Blei and Córdoba, 2001; Foster e Mcvey Neufeld, 2013)

Os neurotransmissores estão envolvidos na patogenia da depressão e na relação com a microbiota intestinal. Foi demonstrado que os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* podem produzir GABA o principal neurotransmissor inibidor no sistema nervoso central dos mamíferos e sua disfunção acarreta sintomas de ansiedade e depressão (Barrett *et al.*, 2012). Em outro estudo, ratos foram tratados com *Lactobacillus rhamnosus* e observou-se, além da melhora no quadro depressivo, a alteração da expressão de receptores de GABA em regiões do SNC relacionadas ao estresse. (Foster e Mcvey Neufeld, 2013)

4.2.2 Encefalopatia hepática

A encefalopatia hepática (EH) é uma disfunção cerebral secundária à insuficiência hepática aguda/crônica. Manifesta-se por um amplo espectro de anormalidades neurológicas ou psiquiátricas que variam de alterações subclínicas ao coma (Vilstrup *et al.*, 2014).

Seu estágio inicial recebe o nome de encefalopatia hepática mínima (EHM), sendo caracterizada por reduções da atenção, da memória, das atividades psicomotoras e da capacidade de visão espacial. Estas alterações não são evidentes e devem ser testadas com uso de testes psicométricos. Já no estágio clínico, onde os sintomas estão agravados, os pacientes são classificados em quatro categorias. Pacientes em grau 1 mostram uma trivial falta de consciência, euforia ou ansiedade, têm atenção diminuída e desempenho prejudicado em operações aritméticas básicas, como adição ou subtração. No grau 2, os sintomas incluem letargia ou apatia, desorientação do tempo ou do espaço, mudanças sutis na personalidade e comportamento inadequado. Pacientes no grau 3 apresentam sonolência, mas permanecem responsivos a estímulos verbais. O grau 4 é caracterizado por coma. (Vilstrup *et al.*, 2014)

Em pacientes com cirrose, a probabilidade de desenvolver a EH durante a vida está entre 30%-40%. Após o diagnóstico o paciente tem de 5 a 25% de chance de apresentar EH dentro de cinco anos dependendo de fatores de risco como infecções, diabetes e hepatite C. A patologia ainda tem características de ressurgência, sendo que em indivíduos com ataques

anteriores de HE o risco de reaparecimento da doença é de 40% em um ano mesmo com tratamento (Vilstrup *et al.*, 2014).

O entendimento da fisiopatologia da EH requer a compreensão dos mecanismos subjacentes às alterações neurológicas, como a inflamação e hiperamonemia, pois se acredita que estes atuam sinergicamente nos danos neurológicos (Felipo, 2013). Esta relação é demonstrada em pacientes com cirrose que recebem por via oral solução contendo aminoácidos, a fim de induzir a alta concentração de amônia no sangue. Observa-se desenvolvimento de EH apenas nos pacientes com inflamação em curso, por doenças hepáticas crônicas ou agudas (Shawcross *et al.*, 2004). Esta observação reforça o papel da inflamação na determinação das manifestações cerebrais de amônia em doenças do fígado (Shawcross *et al.*, 2011).

As respostas inflamatórias sistêmicas, principalmente a neuro-inflamação, são comuns em pacientes com insuficiência hepática crônica e aguda. A neuro-inflamação é comprovada pela existência da ativação de células micróglia em conjunto com o aumento no nível de TNF- α e interleucinas IL-1 β e IL-6. As células da micróglia são específicas do sistema nervoso e constituem os macrófagos residentes do cérebro, sendo responsáveis pelo reconhecimento de distúrbios homeostáticos, como lesões de tecido e vasos. Assim, quando ativadas, liberam citocinas que parecem potencializar os efeitos neuropsiquiátricos em pacientes com EH (Butterworth, 2013). O processo inflamatório também resulta em um aumento da permeabilidade da barreira hemato-encefálica pela exposição às citocinas pró-inflamatórias. Com isso, as vias de sinalização entre o fígado e o cérebro são facilitadas, possibilitando a entrada de compostos deletérios como a amônia no sistema nervoso (Butterworth, 2013).

A amônia é o composto que recebe maior atenção quando se trata dos fatores causadores da EH, mas além deles são considerados outros tóxicos como manganês, alguns ácidos graxos e derivados do triptofano. (Butterworth, 2013).

Os compostos amoníacos são encontrados e liberados a partir de vários tecidos e órgãos como os músculos e os rins, mas em maior concentração na veia porta hepática, como resultado da atividade da urease da microbiota do cólon responsável pela desaminação da glutamina no intestino delgado. Tais compostos são um substrato-chave para a síntese de ureia e de glutamina no fígado. Seu mecanismo de depuração é eficiente em um organismo saudável, mas em pacientes com doenças crônicas como a cirrose, o fígado sofre alteração hemodinâmica, resultando no estabelecimento de shunts (desvios) vasculares intra-hepáticos entre vasos aferentes (veia porta e artéria hepática) e eferentes (veia hepática) (Figura 3).

Esses shunts impedem a entrada de compostos oriundos do intestino no fígado e estes acabam desviados para a circulação sistêmica. (Blei and Córdoba, 2001).

O mecanismo de eliminação de amônia do cérebro é único e ocorre a partir da enzima glutamina sintetase presente nos astrócitos, que incorpora a amônia à glutamina. Propõe-se que essa desintoxicação altere a pressão osmótica do meio resultando em entrada de água nos astrócitos e seu inchaço. O seu papel na desintoxicação e conseqüentemente o seu inchaço tem levado a pensar que o astrócito pode estar ligado aos danos neurológicos e por isso ele é considerado o principal mediador de todos os tipos de HE (Felipo, 2013).

As infecções bacterianas estão presentes em aproximadamente 15%-47% dos pacientes com cirrose hepática e estão especialmente relacionadas com as bactérias Gram-negativas. Isso acontece, pois o fígado está exposto a toxinas e produtos da microbiota autóctone através do eixo com o intestino estabelecido pela veia porta. Para auxiliar na manutenção da homeostase desse eixo o fígado possui células do sistema imunológico como macrófagos, linfócitos e *Natural Killer*. O papel dessas células imunitárias durante resposta inflamatória ou lesão crônica do fígado e o impacto potencial de toxinas derivadas do intestino sobre estes processos têm sido amplamente estudados, principalmente o supercrescimento bacteriana e a permeabilidade intestinal alterada, que possivelmente estão associados com a translocação bacteriana e seus produtos para outros órgãos, o que leva a EH (Garcovich *et al.*, 2012).

O diagnóstico de EH é clínico, geralmente feito por exclusão. Os sinais e sintomas devem ser avaliados com cautela, pois são compartilhados com outras patologias. Fatores predisponentes como aumento da concentração de amônia ou sua difusão pela barreira hemato-encefálica, aparecimento de shunts porto-sistêmicos e diminuição da reserva funcional hepática, auxiliam no diagnóstico (Ferraz and Figueiredo, 2004).

Com o diagnóstico estabelecido, é necessário o conhecimento dos fatores causadores da EH para escolha do tratamento. Entre esse fatores estão hemorragia gastrointestinal, sepse, diarreia, vômitos, shunt hepático, constipação o uso de sedativos e narcóticos. As terapias são direcionadas para reduzir os episódios psiquiátricos e principalmente a concentração de compostos nitrogenados como a amônia no intestino. Até o momento, de acordo com o *Guideline* apenas a EH no estágio clínico é tratada, pois a EHM não é óbvia em exames clínicos de rotina, predominantemente diagnosticada por técnicas específicas. O Transplante de fígado é mencionado como recomendação de tratamento (Vilstrup *et al.*, 2014).

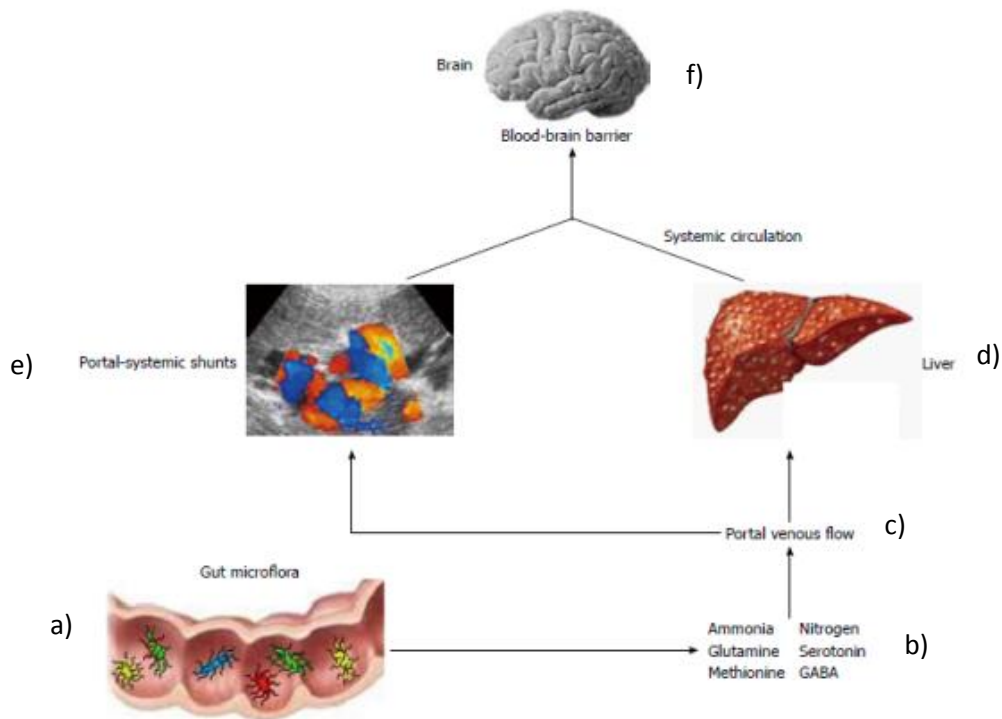


Figura 3: Fisiopatologia da Encefalopatia Hepática. a) microbiota intestinal; b) microbiota libera compostos como amônia, glutamina, metionina, nitrogênio, serotonina e GABA no intestino; c) compostos chegam ao fígado pelo fluxo venoso portal; d) fígado doente; e) ultrassom mostrando o *Shunt* na veia porta hepática que ocasionará na circulação sistema desses compostos liberados pela microbiota intestinal; f) chegada desses compostos ao cérebro pela passagem da Barreira Hemato-Encefálica (Garcovich *et al.*, 2012).

4.2.3 Autismo

O autismo foi descrito pela primeira vez em 1943 pelo pesquisador Leo Kanner que observou, ao analisar 11 pacientes, que estes compartilhavam características que ele denominou de "distúrbio autístico do contato afetivo". Os pacientes apresentavam respostas incomuns ao ambiente, dificuldade de comunicação e maneirismos motores estereotipados. Apesar disso, a dificuldade de caracterização do autismo e o entendimento de sua etiologia perduraram por cerca de duas décadas. Apenas em 1978 isso começou a mudar quando Michael Rutter propôs uma definição para o distúrbio com quatro critérios: 1) atraso e desvio sociais não só como função de retardo mental; 2) problemas de comunicação, novamente, não só em função de retardo mental associado; 3) comportamentos incomuns, tais como movimentos estereotipados e maneirismos; e 4) início antes dos 30 meses de idade. Após a definição de Rutter os trabalhos sobre autismo cresceram, resultando no seu reconhecimento

como uma nova classe de transtornos: os transtornos invasivos do desenvolvimento (TID) pelo Manual de Diagnóstica e Estatística da Sociedade Norte-Americana de Psiquiatria (DSM-III) em 1980 (Klin, 2006)

Atualmente o DSM-5 (Manual de Diagnóstica e Estatística da Sociedade Norte-Americana de Psiquiatria) engloba diferentes síndromes neurológicas com grande variedade de sintomas nas doenças do espectro do autismo (American Psychiatric Association, 2013). Entre todas elas o autismo é a mais grave, e pode ser diferenciado de outros distúrbios neurológico, como síndrome de Asperger, pelo atraso no desenvolvimento da linguagem e pela gravidade dos comprometimentos intelectuais (Fakhoury, 2015).

A etiologia da doença ainda não é clara, acredita-se que fatores ambientais e genéticos podem ter grande influência. O ambiente e o estilo de vida materno são grandes adjuvantes de mudanças no desenvolvimento do sistema nervoso e em seus processos neurológicos como a diferenciação celular e o mecanismo de sinapse. O papel dos hábitos da mãe vai desde sua alimentação, que deve conter nutrientes essenciais e ácidos graxos até o uso de medicamentos como antidepressivos, álcool ou drogas durante a gravidez. Outros fatores possivelmente relacionados são a exposição a poluentes do ar e infecções durante a gravidez. Apesar de todas as evidências ambientais para estabelecimento da etiologia do autismo, é importante enfatizar que nenhum fator ambiental único é suficiente para influenciar significativamente a predisposição para a doença (Lyall *et al.*, 2014); (Fakhoury, 2015).

A genética também parece ter participação na etiologia do autismo. Estudos com gêmeos têm demonstrado que em monozigóticos a concordância para o autismo varia de 36 a 92%, em contraste com gêmeos dizigóticos, onde a concordância é nula ou baixa. Apesar disso, quando se consideram anormalidades cognitivas e sociais, o nível de concordância sobe para 92% entre os monozigóticos e 10% entre os dizigóticos. Acredita-se que existam de três a mais de 10 genes relacionados com a doença. (Carvalho *et al.*, 2004)

O diagnóstico é feito através da observação e da utilização de instrumentos como o *Autism Diagnostic Interview-Revised* (ADI-R) e o *Autism Diagnostic Observation Schedule-Generic* (ADOS-G). Os pacientes selecionados através do diagnóstico apresentam grande heterogeneidade devido à variedade de sintomas característicos da doença. Assim, para facilitar o tratamento e o estudo da doença esses pacientes são agrupados em sub-grupos de compartilhamento de sintomas. Um exemplo são os pacientes com disfunções gastro-intestinais. (Critchfield *et al.*, 2011; Fakhoury, 2015)

As disfunções gastro-intestinais em pacientes com autismo podem estar presentes em sua forma típica, com sintomas de dor abdominal, vômito e náusea ou em sua forma atípica,

quando os sintomas estão além do mau funcionamento intestinal, como insônia, em 52% dos pacientes e irritabilidade em 43% naqueles que possuem refluxo associado (Buie *et al.*, 2010). Indivíduos com autismo que têm sintomas de disfunção exibem níveis significativamente mais elevados de irritabilidade, ansiedade e isolamento social em comparação com aqueles sem estes sintomas (Buie *et al.*, 2010; Critchfield *et al.*, 2011). Apesar disso, a causa dessa disfunção e a correlação com a severidade dos sintomas dos pacientes ainda não é completamente estabelecida. Acredita-se que pode estar ligada a alimentação, já que em pacientes com dieta livre de glúten e de caseína houve melhora nos sintomas, ou também a mudanças na microbiota intestinal residente (Parracho *et al.*, 2005)

Outro aspecto importante ligado aos pacientes com autismo é a disfunção de mecanismos ou componentes do sistema imune incluindo uma proporção anormal de células T CD4 + de células T CD8 +, elevada contagem de monócitos do sangue, diminuição do número de linfócitos e de anticorpos auto-reativos e desequilíbrio de imunoglobulina do soro e da mucosa.(Critchfield *et al.*, 2011)

Pacientes com autismo têm uso de antibiótico muito recorrente em sua história clínica, fazendo com que sua microbiota autóctone comensal sofra mudanças e micro-organismos patogênicos e produtores de toxinas acabem tendo maior oportunidade de se multiplicar no intestino (Parracho *et al.*, 2005). Estudos comparando a microbiota intestinal de pacientes com autismo com o grupo controle mostram que o primeiro possui uma concentração dez vezes mais elevada de micro-organismos do gênero *Clostridium*. Existem hipóteses que relacionam esta disfunção da microbiota, assim como a presença do gênero *Clostridium* e suas toxinas com os sintomas comportamentais do autismo, mas trata-se de um único pequeno estudo que utilizou 11 crianças tratadas com vancomicina (Sandler *et al.*, 2000; Critchfield *et al.*, 2011). Além do aumento de *Clostridium*, trabalhos mais recentes mostraram aumentos também de Enterobacteriaceae, Bacteroidetes e *Alistipes*, enquanto *Faecalibacterium* e *Bifidobacterium* se apresentaram em níveis reduzidos em crianças com autismo (De Angelis *et al.*, 2013). Outros trabalhos recentes sugerem a participação dos ácidos graxos voláteis (AGV), particularmente o ácido propiônico, no autismo. Esses AGV poderiam promover uma alteração na função mitocondrial, e teriam uma origem tanto microbiana como alimentar (Macfabe, 2015).

4.3 Probióticos

4.3.1 Definições e aplicações

A inclusão de micro-organismos nos alimentos, principalmente nos derivados do leite, e a observação de benefícios à saúde com essa prática são antigos na história da ciência humana. Em uma versão Persa do Antigo Testamento (Gênesis 18;8) há uma passagem que diz que "Abraão devia sua longevidade ao consumo de leite azedo". Em 76 AC, os produtos lácteos também foram citados por Plínio, um historiador romano que dizia que estes poderiam ser administrados para o tratamento de gastroenterites (Schrezenmeir e De Vrese, 2001).

Em 1907, com o advento das técnicas em microbiologia, a primeira observação original dos benefícios dos micro-organismos administrados em alimentos foi feita. O pesquisador russo, Élie Metchnikoff foi o pioneiro ao sugerir que: "A dependência de micróbios do intestino sobre a comida faz com que seja possível adotar medidas para modificar a flora em nossos corpos e substituir os micróbios nocivos por micróbios úteis." (Metchnikoff, 1907). Neste mesmo período, Henri Tissier começou a fazer as mesmas observações, mas indagando o porquê de crianças saudáveis, livres de diarreias intestinais, terem em suas fezes uma alta concentração de bactérias que ele observou ter forma de Y, e as nomeou de bífidas. Este pesquisador francês então sugeriu que estes micro-organismos poderiam ser administrados a doentes para restaurar sua microbiota e assim acabar com patologias intestinais.

Apesar da descoberta de Metchnikoff ser de grande importância para saúde humana, seu conceito foi abandonado nos períodos de pré e pós-guerra mundial. Assim, entre os anos de 1908 a 1964 nada foi publicado a respeito do uso de micro-organismos como agentes terapêuticos. Foi em 1965 que outros pesquisadores começaram a resgatar tais pesquisas e o termo "probióticos" foi usado pela primeira vez. Ainda em um contexto diferente do atual, foram definidos como "substâncias secretadas por um organismo que estimulam o crescimento de outro" (Lilly and Stillwell, 1965). Em 1974, a descrição passou a ser "organismos e substâncias que contribuem para o equilíbrio da microbiota intestinal" (Anukam and Reid, 2007). Quinze anos depois foi proposto que "probióticos são micro-organismos vivos que afetam benéficamente o hospedeiro animal por melhorar seu equilíbrio microbiano" (Fuller, 1989), e logo depois foi sugerido que o conceito seria: "alimentos contendo bactérias vivas que são benéficas para a saúde" (Salminen *et al.*, 1998).

Atualmente, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) juntamente com a Organização para Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (FAO) os probióticos foram definidos como “micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem um benefício à saúde do hospedeiro”(FAO/WHO, 2001).

5.3.2 Características probióticas e micro-organismos utilizados

Os probióticos devem exercer suas vantagens sobre o hospedeiro pelo seu crescimento e/ou sua atividade (FAO/WHO, 2001). O processo de seleção das cepas deve incluir segurança, funcionalidade e aspectos tecnológicos (Saarela *et al.*, 2000).

Os fatores de segurança são: as cepas devem ser preferencialmente de origem humana, isoladas do TGI de pessoas saudáveis, devem ter um histórico de cepas não patogênicas ou associadas a doenças do TGI, e não devem carregar genes transmissíveis de resistência a antibióticos (Saarela *et al.*, 2000).

Dentre os aspectos funcionais: os probióticos preferencialmente devem ser tolerantes a ácidos e ao suco gástrico, devem ser tolerantes a bile, devem apresentar aderência à superfície epitelial e mecanismos de persistência no TGI humano, devem estimular o sistema imune do hospedeiro, mas sem efeitos pro-inflamatórios excessivos, devem ser anti-mutagênico e anti-carcinogênico e deve apresentar atividade antagonista para patógenos como *Helicobacter pylori*, *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes* e *Clostridium difficile*, entre outros (Saarela *et al.*, 2000).

Os fatores tecnológicos incluem: resistência aos fagos, viabilidade durante o processamento e estabilidade durante a produção e armazenamento (Saarela *et al.*, 2000).

Vários gêneros de micro-organismos são usados como probióticos, podendo ser utilizado um ou mais em uma única preparação. Dentre os mais utilizados em probióticos estão os gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Streptococcus*.

Lactobacillus e *Bifidobacterium* são gêneros com maior resistência às condições do TGI como a presença de sais biliares, enzimas pancreáticas e o suco gástrico. Além disso, elas não tem histórico de virulência no intestino e são importantes na inibição de micro-organismos patogênicos entéricos como *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* enteropatogênicas, *Clostridium perfringens* e *Clostridium difficile* (Rolfe, 2000).

A ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) preconiza o uso de tais micro-organismos como probióticos: *Lactobacillus casei* Shirota, *Lactobacillus casei* variedade

rhamnosus, *Lactobacillus casei* variedade *Defensis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium animalis* (incluindo a subespécie *B. lactis*) *Bifidobacterium longum* e *Enterococcus faecium*. Esclarece ainda que a quantidade mínima viável para os probióticos deve estar situada na faixa de 10^8 a 10^9 UFC na recomendação diária do produto pronto para o consumo, conforme indicação do fabricante. Valores menores podem ser aceitos, desde que a empresa comprove sua eficácia (ANVISA, 2015).

Tem sido amplamente estudado o uso de probióticos para o tratamento principalmente de doenças intestinais como diarreias e a síndrome do instinto irritável, mas também doenças que estejam ligadas a interação bidirecional entre intestino e cérebro.

4.3.3 Utilização em distúrbios neurológicos e mecanismos de ação

A depressão tem como co-morbidade a ansiedade e o estresse, ambos possivelmente ligados a microbiota intestinal. Um estudo mostrou que estudantes saudáveis tinham menos lactobacilos presentes em suas fezes durante momentos extremamente estressantes em comparação com períodos menos estressantes (Dinan and Cryan, 2013). Em outro estudo, um estresse de separação materna entre 6 e 9 meses de idade em macacos *Rhesus* resultou na diminuição dos níveis de lactobacilos nas suas fezes (Bailey *et al.*, 2004). Ainda, a exposição ao stress crônico em ratos adultos diminuiu a abundância relativa de espécies de *Bacteroides* e aumentou as espécies de *Clostridium* no ceco. Além disso, modulou o sistema imunitário, com um aumento da interleucina-6 (Bailey *et al.*, 2011).

Estudos recentes mostram que os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* têm sido benéficamente usados como probióticos, pois estão ligados à produção de GABA (sua disfunção acarreta em sintomas de ansiedade e depressão) (Barrett *et al.*, 2012). No estudo a produção de GABA por bifidobactérias exibiu considerável variação entre espécies. *Lactobacillus brevis* e *Bifidobacterium dentium* foram as mais eficientes produtoras entre várias cepas testadas (Barrett *et al.*, 2012). Contudo, são poucas as pesquisas envolvendo probióticos e a depressão para aplicação prática na clínica em humanos, e aquelas que existem ainda estão em desenvolvimento, não tendo ainda resultados preliminares.

Na EH os principais gêneros estudados como probióticos são *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Seu mecanismo de atuação está ligado ao rearranjo da microbiota residente, diminuindo a concentração de bactérias patogênicas e melhorando fatores de extrema importância na etiologia da doença como a concentração de amônia no sangue portal. O

probiótico diminui a atividade da uréase bacteriana, com isso a absorção de amoníaco diminui junto ao valor do pH. O probiótico também reduz a translocação bacteriana, atuando na modulação da permeabilidade do intestino e na resposta pró-inflamatória, tendo grande impacto na diminuição da gravidade da doença, além de diminuir a absorção de outras toxinas, tais como, indóis e fenóis (Garcovich *et al.*, 2012).

As pesquisas experimentais utilizando seres humanos ainda são escassas. Um grupo de pesquisadores indianos avaliou a eficácia de uma preparação probiótica na prevenção da recorrência de EH (desfecho primário), na redução do número de internações hospitalares e na gravidade da doença hepática em pacientes com cirrose. Foi realizado um estudo duplo-cego em um hospital na Índia, onde pacientes com cirrose que tinham recuperado de um episódio de EH durante o mês anterior foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos. O primeiro grupo recebeu uma preparação probiótica contendo: 4 linhagens de *Lactobacilli* (*L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* e *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), 3 linhagens de *Bifidobacteria* (*B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*) e uma linhagem de *Streptococcus thermophilus*. O segundo grupo recebeu somente um placebo. Após seis meses, a ingestão diária do probiótico reduziu significativamente o risco de hospitalização por EH, bem como a escala de classificação de Child-Turcotte-Pugh (usada para avaliar o prognóstico da doença hepática crônica) (Dhiman *et al.*, 2014).

Apesar dessas recentes pesquisas envolvendo probióticos e EH, o Guideline da *European Association for the Study of Liver* ainda não preconiza o uso de probióticos para essa situação, pois, de acordo com eles, as quantidades e tipos de organismos diferentes tornam difíceis de recomendar como opções terapêuticas no momento.

No tratamento do autismo o uso de probiótico está ligado aos grupos bacterianos envolvidos na disfunção gastrointestinal. Apesar de não existir uma estimativa precisa do número de crianças com autismo que possuem problemas gastrointestinais, parece que os casos são frequentes. Isso pode ser notado quando comparados crianças autistas sem os sintomas gastrointestinais com crianças que possuem os sintomas (vômito e náusea), nestas, observa-se as características do autismo agravadas como irritabilidade, ansiedade e isolamento social (Critchfield *et al.*, 2011). A causa dessa disfunção intestinal ainda não é conhecida, mas está claro que estes pacientes possuem uma microbiota intestinal diferenciada com uma população dez vezes maior do gênero *Clostridium* quando comparado com os pacientes controles (Finegold *et al.*, 2002). Apesar dos estudos englobando esse gênero e os pacientes com autismo ainda serem poucos, foi identificado por PCR em tempo real que as espécies *Clostridium clusters* e *Clostridium bolteae* são específicas de pacientes com autismo

e nunca foram encontradas em pacientes saudáveis (Finegold *et al.*, 2002). Assim, a utilização dos probióticos se baseia na estabilização da microbiota intestinal comensal e eliminação de populações patogênicas possíveis causadores da disfunção gastrointestinal, sendo que a bactéria mais utilizada para isso foi *Bifidobacterium infantis* (Critchfield *et al.*, 2011). Experimentalmente as pesquisas em humanos ainda estão no início, como a de um grupo da Universidade da Califórnia, que está recrutando pacientes para analisar o efeito dos oligossacarídeos do leite (fatores bífidos) e bifidobactéria na microbiota intestinal de crianças com autismo.

5. CONCLUSÃO

O papel fundamental desenvolvido pela instalação e permanência da microbiota indígena para a maturação e manutenção do sistema imunológico e da fisiologia digestiva do hospedeiro humano, assim como a proteção oferecida contra infecções, é bem conhecido e foi particularmente confirmado com estudos comparativos de modelos animais isentos de germes e convencionais. Recentemente, foi também demonstrado a grande influência da microbiota sobre a maturação do sistema nervoso, em particular entérico. Todas essas interferências entre a biologia do hospedeiro e sua microbiota associada mostraram ser bi-direcionais. Neste sentido, perturbações na microbiota indígena (disbiose) podem ter consequências sobre o sistema nervoso e inversamente. O presente trabalho mostra que a intervenção no ecossistema microbiano associado ao hospedeiro humano com a ingestão de probióticos tem grande potencial quando se analisa seu papel nas vias humorais, imunológicas e neurais compartilhadas com o sistema nervoso para o tratamento de doenças neurológicas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Psychiatric Association, 2013. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders**, 5th ed. American Psychiatric Association, Washington, DC.

ANUKAM, K. C.; REID, G. **Probiotics: 100 years (1907-2007) after Elie Metchnikoff's Observation**: Formatex 2007.

BAILEY, M. T.; LUBACH, G. R.; COE, C. L. Prenatal stress alters bacterial colonization of the gut in infant monkeys. **J Pediatr Gastroenterol Nutr**, v. 38, n. 4, p. 414-21, 2004.

BAILEY, M. T. et al. Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation. **Brain Behav Immun**, v. 25, n. 3, p. 397-407, 2011.

BANKS, W. A. The blood-brain barrier: connecting the gut and the brain. **Regul Pept**, v. 149, n. 1-3, p. 11-4, 2008. apud. Darwin, C. R. **The Expression of the Emotions in man and animals**. First Edition. London: John Murray, 1872.

BARBOSA, F. H. F. et al. Microbiota indígena do trato gastrintestinal. **Revi Biol e Ciêne da Terra** v. 10, 2010.

BARRETT, E. et al. Gamma-Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. **J Appl Microbiol**, v. 113, n. 2, p. 411-7, 2012.

BLEI, A. T.; CÓRDOBA, J. Hepatic encephalopathy. **Amer J Gastroenterol**, v. 96, n. 7, p. 1968-1976, 2001-07-01 2001.

BUIE, T. et al. Evaluation, diagnosis, and treatment of gastrointestinal disorders in individuals with ASDs: a consensus report. **Pediatrics**, v. 125 Suppl 1, p. S1-18, 2010.

BUTTERWORTH, R. F. The liver-brain axis in liver failure: neuroinflammation and encephalopathy. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 10, n. 9, p. 522-8, 2013.

CARVALHEIRA, G. et al. Genetics of autism. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. , n. 4, p. 270-272, 2004.

CRITCHFIELD, J. W. et al. The potential role of probiotics in the management of childhood autism spectrum disorders. **Gastroenterol Res Pract**, v. 2011, p. 161358, 2011.

CRYAN, J. F.; DINAN, T. G. Mind-altering microorganisms: the impact of the gut microbiota on brain and behaviour. **Nat Rev Neurosci**, v. 13, n. 10, p. 701-12, 2012.

DE ANGELIS, M. et al. Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. **PLoS One**, v. 8, n. 10, p. e76993, 2013.

DESBONNET, L. et al. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression. **Neuroscience**, v. 170, n. 4, p. 1179-88, 10 2010.

DHIMAN, R. K. et al. Probiotic VSL#3 reduces liver disease severity and hospitalization in patients with cirrhosis: a randomized, controlled trial. **Gastroenterology**, v. 147, n. 6, p. 1327-37.e3, 2014.

DINAN, T. G.; CRYAN, J. F. Melancholic microbes: a link between gut microbiota and depression? **Neurogastroenterol Motil**, v. 25, n. 9, p. 713-9, 2013.

FAKHOURY, M. Autistic spectrum disorders: A review of clinical features, theories and diagnosis. **Int J Dev Neurosci**, v. 43, p. 70-7, 2015.

FAO; WHO. **Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria**. Argentina 2002.

FELIPO, V. Hepatic encephalopathy: effects of liver failure on brain function. **Nat Rev Neurosci**, v. 14, n. 12, p. 851-8, 2013.

FERRAZ, L. R.; FIGUEIREDO, L. F. P. D. Diagnóstico de encefalopatia hepática. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 50, n. 2, p. 116-116, 2004.

FINEGOLD, S. M. et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. **Clin Infect Dis**, v. 35, n. Suppl 1, p. S6-S16, 2002.

FOSTER, J. A.; MCVEY NEUFELD, K.-A. Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. **Trends in Neurosciences**, v. 36, n. 5, p. 305-312, 2013.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **J Appl Bacteriol**, v. 66, n. 5, p. 365-78, 1989.

GARCOVICH, M. et al. Prevention and treatment of hepatic encephalopathy: focusing on gut microbiota. **World J Gastroenterol**, v. 18, n. 46, p. 6693-700, 2012.

GORDON, H. A. Morphological and physiological characterization of germfree life. **Ann N Y Acad Sci**, v. 78, p. 208-20, 1959.

GRENHAM, S. et al. Brain-gut-microbe communication in health and disease. **Front Physiol**, v. 2, p. 94, 2011.

HOOPER, L. V.; GORDON, J. I. Commensal host-bacterial relationships in the gut. **Science**, v. 292, n. 5519, p. 1115-8, 2001.

HUSEBYE, E. et al. Influence of microbial species on small intestinal myoelectric activity and transit in germ-free rats. **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol**, v. 280, n. 3, p. G368-80, 2001.

JANDHYALA, S. M. et al. Role of the normal gut microbiota. **World J Gastroenterol**, v. 21, n. 29, p. 8787-803, 2015.

JIANG, H. et al. Altered fecal microbiota composition in patients with major depressive disorder. **Brain Behav Immun**, 2015.

JOO, Y. E. Alteration of Fecal Microbiota in Patients With Postinfectious Irritable Bowel Syndrome. In: (Ed.). **J Neurogastroenterol Motil**, v.21, 2015. p.135-7.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2008.

KLIN, A. Autism and Asperger syndrome: an overview. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 28, 2006.

LILLY, D. M.; STILLWELL, R. H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. **Science**, v. 147, n. 3659, p. 747-8, 1965.

LYALL, K.; SCHMIDT, R. J.; HERTZ-PICCIOTTO, I. Maternal lifestyle and environmental risk factors for autism spectrum disorders. **Int J Epidemiol**, v. 43, n. 2, p. 443-64, 2014.

MACFABE, D. F. Enteric short-chain fatty acids: microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind: implications in autism spectrum disorders. **Microb Ecol Health Dis**, v. 26, p. 28177, 2015.

MACHADO, A. **Neuroanatomia Funcional**. São Paulo: Editora Atheneu 2006.

MACPHERSON, A. J.; HARRIS, N. L. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. **Nat Rev Immunol**, v. 4, n. 6, p. 478-85, 2004.

MAYER, E. A. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. **Nat Rev Neurosci.**, v.12, 2011. p.453-66.

METCHNIKOFF, É. **The prolongation of life: Optimistic studies.** . London: W. Heinemann 1907.

NETO, M. R. L. **Psiquiatria básica.** ELKIS, H. Porto Alegre: Artmed 2007.

PARRACHO, H. M. et al. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. **J Med Microbiol**, v. 54, n. Pt 10, p. 987-91, 2005.

QUIGLEY, E. M. Probiotics in functional gastrointestinal disorders: what are the facts? In: (Ed.). **Curr Opin Pharmacol.** v.8, 2008. p.704-8.

RHEE, S. H.; POTHOUKAKIS, C.; MAYER, E. A. Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. **Nat Rev Gastroenterol Hepatol**, v. 6, n. 5, p. 306-14, 2009.

ROLFE, R. D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **J Nutr**, v. 130, n. 2S Suppl, p. 396S-402S, 2000.

SAARELA, M. et al. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **J Biotechnol**, v. 84, n. 3, p. 197-215, 2000.

SALMINEN, S. et al. Demonstration of safety of probiotics -- a review. In: (Ed.). **Int J Food Microbiol.** Netherlands, v.44, 1998. p.93-106.

SANDLER, R. H. et al. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. **J Child Neurol**, v. 15, n. 7, p. 429-35, 2000.

ANVISA. *Alegações de propriedade funcional aprovadas 2015.* Accessed on: 11 de novembro.

SARTOR, R. B. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. **Gastroenterology**, v. 134, n. 2, p. 577-594, 2008.

SCHREZENMEIR, J.; DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics--approaching a definition. **Am J Clin Nutr**, v. 73, n. 2 Suppl, p. 361S-364S, 2001.

SHAWCROSS, D. L. et al. Infection and systemic inflammation, not ammonia, are associated with Grade 3/4 hepatic encephalopathy, but not mortality in cirrhosis. **J Hepatol**, v. 54, n. 4, p. 640-9, 2011.

SHAWCROSS, D. L. et al. Systemic inflammatory response exacerbates the neuropsychological effects of induced hyperammonemia in cirrhosis. **J Hepatol**, v. 40, n. 2, p. 247-54, 2004.

TANNOCK, G. W. **Normal Microflora: an introduction to microbes inhabiting the human body**. London: Chapman & Hall 1995.

TLASKALOVÁ-HOGENOVÁ, H. et al. Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic inflammatory and autoimmune diseases. **Immunol Lett**, v. 93, n. 2-3, p. 97-108, 2004.

VILSTRUP, H. et al. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. **Hepatology**, v. 60, n. 2, p. 715-35, 2014.

VISMARI, L. et al. Depression, antidepressants and immune system: a new look to an old problem. **Arch. Clin. Psychiatry (São Paulo)**, v. 35, n. 5, p. 196-204, 2008.

ZHOU, L.; FOSTER, J. A. Psychobiotics and the gut-brain axis: in the pursuit of happiness.. **Neuropsychiatr Dis Treat**. v.11, 2015. p.715-23.