

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

EDUARDO NATAN MARASCHIN KLEIN

**AS INTER-RELAÇÕES ENTRE A NUTRIÇÃO, A BILE E O  
MICROBIOMA INTESTINAL HUMANO: UMA REVISÃO NARRATIVA**

PORTO ALEGRE

2021

EDUARDO NATAN MARASCHIN KLEIN

**AS INTER-RELAÇÕES ENTRE A NUTRIÇÃO, A BILE E O  
MICROBIOMA INTESTINAL HUMANO: UMA REVISÃO NARRATIVA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de nutrição da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como pré-requisito para obtenção do título de bacharel em Nutrição.  
Orientador: José Cláudio Fonseca Moreira

PORTO ALEGRE

2021

### CIP - Catalogação na Publicação

Maraschin Klein, Eduardo Natan  
AS INTER-RELAÇÕES ENTRE A NUTRIÇÃO, A BILE E O  
MICROBIOMA INTESTINAL HUMANO: UMA REVISÃO NARRATIVA /  
Eduardo Natan Maraschin Klein. -- 2021.  
40 f.  
Orientador: José Cláudio Fonseca Moreira.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade  
de Medicina, Curso de Nutrição, Porto Alegre, BR-RS,  
2021.

1. Nutrição. 2. Bile. 3. Microbioma Intestinal. 4.  
Ecologia. I. Fonseca Moreira, José Cláudio, orient.  
II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

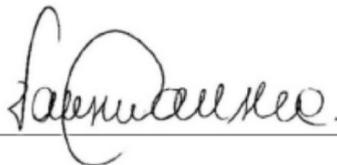
**FOLHA DE APROVAÇÃO DA BANCA EXAMINADORA**  
**EDUARDO NATAN MARASCHIN KLEIN**

**AS INTER-RELAÇÕES ENTRE A NUTRIÇÃO, A BILE E O**  
**MICROBIOMA INTESTINAL HUMANO: UMA REVISÃO NARRATIVA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal do Rio Grande do Sul,  
Faculdade de Medicina, Graduação em Nutrição.

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova o trabalho de conclusão de curso “As inter-relações entre a nutrição, a bile e o microbioma intestinal humano: Uma revisão narrativa”, elaborado por Eduardo Natan Maraschin Klein como requisito parcial para obtenção de Grau de Bacharel em Nutrição.

Comissão Examinadora:



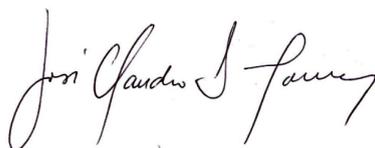
---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Valesca Dall'Alba (FAMED/UFRGS)**



---

**Me. Alexandre Kleber Silveira (ICBS/UFRGS)**



---

**Prof. Dr. José Cláudio Fonseca Moreira (ICBS/UFRGS)**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe por ser a única pessoa da minha família a apoiar minha trajetória de estudos na Nutrição. Também agradeço à minha avó e ao meu avô, que me criaram na infância e me deram condições de ter acesso à alimentação e à educação. Também agradeço à sociedade brasileira, que custeou meus estudos na Universidade Pública Federal.

Agradeço ao universo por me presentear a possibilidade de viver neste tempo presente. Uma época em que posso utilizar a internet e conhecer desde os artigos mais recentes até os livros mais antigos que já tenham sido catalogados e disponibilizados na rede.

Agradeço muito à instituição UFRGS, que me ofereceu excelentes professores, bem como diferentes possibilidades de vivência e trabalho, em diversas áreas do conhecimento.

Agradeço às professoras e aos professores que me ensinaram muito além do conteúdo das disciplinas, e que trouxeram ensinamentos para a minha vida.

Agradeço também a muitos escritores, pesquisadores e praticantes de diversas terapias em nutrição (pouco conhecidos, esquecidos e/ou ignorados) que me inspiraram a fazer perguntas complexas e conseqüentemente a realizar este trabalho para pesquisar respostas.

Agradeço à tradição milenar da Medicina Ayurveda, que pude conhecer ao longo de muitos anos lendo autores ocidentais que abordam-na. A Ayurveda traz explicações fisiológicas para os “fluxos moleculares” no corpo humano. A farmacocinética, a toxicocinética e aquilo que eu chamo de “nutricinética” são estudadas há milênios pela Ayurveda, observando fluxos de moléculas polares ou apolares pelo corpo humano. E toda essa cinética molecular inclui a compreensão do sistema linfático e da circulação biliar entero-hepática. Baseada nisso, a Ayurveda dispõe de condutas terapêuticas como “*panchakarma*” e “*kaya kalpa*”, que utilizam uma série de massagens com óleos, banhos especiais, lavagens intestinais e dietas muito específicas, que alegam remover “toxinas pesadas e persistentes” que possam estar alojadas no corpo humano, e desta forma promovendo a melhor saúde e maior longevidade.

Agradeço ao naturopata e pesquisador de Ayurveda, Andreas Moritz, por seu livro “*A Limpeza do Fígado e da Vesícula*”. Este método, também conhecido como “*Descarga Hepática*” (“*Liver Flush*”) consiste-se numa intervenção dietoterápica com duração de uma semana, em dieta hipoproteica e hipolipídica, com altas quantidades de suco de maçã (ácido málico), sucedida de um curto jejum e por fim havendo a ingestão de sais de magnésio, óleos e sucos de frutas cítricas numa sequência específica. Essa intervenção dietoterápica promove a manipulação do momento e da qualidade de um estímulo colagogo, e a formação de

“cálculos de sais” (“saponificação”) no lúmen do TGI, compostos por cátions como o magnésio (e outros metais ionizados que possam eventualmente estar no lúmen do TGI) e os ânions como os ácidos biliares, os ácidos graxos e as moléculas lipossolúveis, dentre elas diversos xenobióticos apolares de caráter tóxico. Estes “cálculos saponificados com magnésio e ácidos graxos” parecem “capturar” e evitar a (re)absorção entero-hepática de diversas moléculas apolares com potencial tóxico, facilitando sua eliminação fecal.

Agradeço também aos autores que defenderam as práticas de jejum no ocidente nos últimos 200 anos. Dentre eles destaco Arnold Ehret, que observou como as pessoas que jejuavam por muitos dias pareciam eliminar diversas formas de “muco”. Os conceitos de “muco” do autor parecem alternar entre o que chamamos realmente de muco, e o que a Ayurveda chama de “kapha”, mas também referem-se aos biofilmes que colonizam epitélios, compostos de resíduos da alimentação que estejam sendo degradados há muito tempo por microorganismos, e a isso a Ayurveda chama de “ama”. Arnold Ehret salientava muito a digestibilidade da dieta e seus resíduos, e incentivava à limpeza do lúmen colônico, utilizando laxativos e/ou enemas. Ele também observava a variação de odor nas pessoas, a exemplo do odor das axilas, em relação a diferentes formas de alimentação.

Agradeço a todos os pesquisadores e profissionais de hidrocolonterapia, por observarem os benefícios de manter o cólon sem antigos acúmulos fecais.

Agradeço ao escritor Thierry de Lestrade, que em sua obra “*Jejum: uma nova terapia?*” aborda questões éticas sobre a medicina, diversos aspectos históricos e relatos anedóticos sobre experiências da utilização de jejuns como tratamentos psiquiátricos, observando que os efeitos benéficos de jejuns prolongados incluíam a melhoria do estado de humor.

Agradeço também a pequenos estudos realizados no século XX, como o realizado pelo médico Walter Kempner. Prescrevendo uma dieta totalmente sem sal e sem gorduras, consistindo-se em apenas arroz branco cozido, sucos de frutas e açúcar, observou-se uma diminuição da obesidade e da hipertensão arterial em alguns pacientes. Talvez esse pequeno estudo já demonstrasse alguma evidência de como a remoção de gorduras da dieta pode “quebrar” o ciclo entero-hepático e facilitar a eliminação de moléculas apolares do organismo, e que talvez essas moléculas sejam associadas à obesidade e à HAS.

Agradeço também ao dentista e pesquisador Weston Price, por sua contribuição ao observar profundas relações entre saúde bucal e alimentação, levantando hipóteses sobre a importância das vitaminas lipossolúveis e do cálcio na dieta para a saúde dentária. Ele visitou muitas comunidades humanas ao redor do mundo, observando que quando consumiam um animal, geralmente consumiam-no inteiro, incluindo órgãos internos e preparando caldos

ricos em colágeno. Além de observar um consumo muito mais abrangente de espécies vegetais, tornando central a ideia de “densidade nutricional” (micronutrientes por calorias).

Agradeço ao pesquisador Nun Amen-Ra por sua prática ascética em nutrição e seus estudos sobre manutenção de massa muscular em contexto “hipocalórico”, praticando longos períodos de “semi-jejuns” consumindo apenas minerais e aminoácidos livres por várias horas.

Agradeço também ao admirável médico Max Gerson, que em meados do século XX desenvolveu uma terapia extremamente complexa e aparentemente eficiente para tratar pacientes com diversas enfermidades. Sua terapia consistia numa dietoterapia exigente (sem sal, sem gorduras exceto as de linhaça, com poucas proteínas como laticínios desnatados e lentilhas), com o uso necessário de alguns suplementos (ex.: enzimas digestivas, vit. B12), e o estímulo colagogo induzido ao tomar café preto com óleo laxativo em jejum, ou ao realizar enemas de café. A dieta restrita em gorduras pode naturalmente diminuir a absorção de moléculas apolares do TGI para o organismo, mas pode induzir menor estímulo colagogo, e para promover a excreção biliar o café era utilizado. É importantíssimo promover o correto fluxo biliar para haver a excreção de xenobióticos apolares de alto peso molecular (muitas vezes tóxicos), e nesta dieta é provável que não ocorra a reabsorção de muitas destas moléculas apolares eliminadas via biliar, quebrando o ciclo de re-intoxicação.

Agradeço Ann Wigmore por suas pesquisas em crudivorismo, abordando a produção e o consumo de sementes germinadas e brotos, além de alimentos fermentados e desidratados.

Agradeço também ao fisiologista e pesquisador independente, Raymond Peat, cujos artigos me trouxeram muitos questionamentos. Dentre as ideias que o autor traz estão os conceitos do “*ciclo de Randle*” (“competições” entre glicose e ácidos graxos livres em células periféricas), a enorme importância de consumir carboidratos na dieta (para manter a glicemia, e pelos picos de insulina reduzirem efeitos de adrenalina e cortisol quando ativados por hipoglicemia, para aumentar a produção de ácido glucurônico e conjugação e eliminação de xenobióticos, e conversão hepática de T4 em T3 dependente de glicose), e a modulação das gorduras na dieta, pois toda gordura no lúmen do TGI pode causar disbiose, “*Leaky Gut*”, e favorecer a absorção de LPS e outras toxinas apolares, e, por fim, como as gorduras fontes de ácidos graxos poli-insaturados (“*PUFAs*”) podem estar correlacionadas à gênese de processos de inflamação crônica subclínica e diminuição crônica das capacidades do sistema imune.

Todos estes autores, dentre outros, despertaram profundas perguntas em mim. Em vários pontos concordo com eles, e em algumas questões eu discordo. E também é possível observar que há muitas divergências entre eles. Estas leituras e minha Graduação em Nutrição constituem meu atual “saber nutricional”, e agora originaram este trabalho.

## RESUMO

**Introdução:** O interesse em estudar o Microbioma Intestinal Humano (MIH) tem crescido dentre a comunidade científica. A ecologia do MIH adapta-se constantemente ao ambiente do Trato Gastro-Intestinal (TGI), e correlaciona-se a diferentes hábitos alimentares e condições metabólicas e patológicas. Mamíferos, enquanto hospedeiros, começam a constituir seu microbioma através de herança materna (no momento do “parto normal” e/ou da amamentação). A Metagenômica do mapeamento do gene ribossomal 16-S de procaríotos, via PCR, nos ajuda a entender a configuração ecológica do MIH, mesmo que ainda não consigamos analisar melhor a ecologia de leveduras (fungos, eucariotos) e de vírus residentes no TGI. O MIH interage, ao longo de toda a vida do hospedeiro, com diferentes substâncias presentes no lúmen do TGI, originadas daquilo que foi ingerido (resíduos do bolo alimentar) ou originadas da própria bile excretada ao lúmen pelo organismo do hospedeiro. A bile é constituída de diversas moléculas que são metabolizadas pelo MIH e reabsorvidas. As relações entre a nutrição, a bile e o microbioma intestinal trazem um enorme conjunto de perguntas sobre a saúde humana.

**Objetivo:** Revisar a literatura científica sobre as interações entre a nutrição, a bile (sua presença ou sua ausência, suas quantidades, sua constituição molecular, suas funções...) e o microbioma intestinal humano. Observar trabalhos com experimentos que exemplificam estas correlações, envolvendo simulações, observação de casos clínicos ou revisões.

**Métodos:** Foi realizada busca no “Google Acadêmico” associando os descritores “bile” e “microbiome”. Dos quase 61400 artigos, foram selecionados subjetivamente **16 artigos** publicados de 2017 até 2021 (estipulou-se os 5 anos mais recentes).

Além disso, referenciam-se tecnologias metagenômicas aplicadas a análise de MIH, aspectos anatômicos da árvore biliar, a constituição da bile, e a conseqüente interação da nutrição com a bile e o MIH, modulando diversos aspectos metabólicos da saúde humana.

**Resultados da Revisão:** Foram revisadas as correlações entre Ácidos Biliares, MIH, Padrões Alimentares, Doenças Inflamatórias do TGI, Hepatopatias e diversas correlações ambientais.

**Conclusão:** É evidente hoje que a Ciência da Nutrição Humana deve abordar novas variáveis em suas condutas dietoterápicas. A metagenômica, aplicada à compreensão da ecologia do MIH, e a metabolômica, com análises de cromatografia líquida e espectro de massas de “pool” de ácidos biliares, oferecem novos elementos para futuras pesquisas dietoterápicas.

**Palavras-chaves:** Bile, Ecologia, Microbioma, Intestinal, Nutrição, Humano.

## ABSTRACT

**Introduction:** The interest in studying the Human Intestinal Microbiome (HIM) has growing within a scientific community. HIM ecology constantly adapts to the environment of the Gastro-Intestinal Tract (GIT), and correlates with different dietary patterns and metabolic and pathological conditions. Mammals, as hosts, begins to create their owns microbiomes through maternal inheritance (at the time of “normal birth” and/or breastfeeding). The Metagenomics of mapping the 16-S ribosomal gene of prokaryotes, via PCR, helps us to understand the ecological configuration of HIM, even though we are still unable to better analyze the ecology of yeasts (fungi, eukaryotes) and viruses residing in the GIT. HIM interacts, throughout the host's life, with different molecules inside the lumen of the GIT, originated from what was ingested (food bolus residues) or from the bile itself that are excreted into the lumen by the host's organism. Bile is made of several molecules that can be metabolized by HIM and reabsorbed. The relationships between nutrition, bile and the gut microbiome raise a huge set of questions about human health.

**Objective:** Review the scientific literature on the interactions between nutrition, bile (its presence or absence, its quantities, its molecular constitution, its functions...) and the human intestinal microbiome. Review experiments that exemplify these correlations, involving simulations, clinical cases or reviews.

**Methods:** A search was performed in june/2021, in the website “Google Scholar” associating the descriptors “bile microbiome”. Of the nearly 61,400 articles, 16 articles published from 2017 to 2021 were subjectively selected (it stipulated the 5 most recent years).

In addition, references are made to metagenomic technologies applied to HIM analysis, anatomical aspects of the biliary tree, the constitution of bile, and the consequent interaction of nutrition with bile and HIM, modulating metabolic aspects of human health.

**Results and Discussion:** Correlations between Bile Acids, HIM, Food Patterns, GIT Inflammatory Diseases, Liver Diseases and environmental correlations were reviewed.

**Conclusion:** It's clearly today that the Science of Human Nutrition must address new variables in dietotherapies. Metagenomics, applied to understand the HIM ecology, and metabolomics, with liquid chromatography and mass spectrometry to analyzes bile acids pool, offer new elements for future dietary research.

**Key words:** Bile, Ecology, Microbiome, Intestinal, Nutrition, Human.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

### **Janela Hepática e da Vesícula Biliar. MSD Manual.**

*<https://www.msmanuals.com/pt/profissional/dist%C3%BArbios-hep%C3%A1ticos-e-biliares/dist%C3%BArbios-da-ves%C3%ADcula-biliar-e-ductos-biliares/vis%C3%A3o-geral-da-fun%C3%A7%C3%A3o-biliar>*

**Circulação Entero-Hepática.** MERTENS, Kim L. et al. Bile acid signaling pathways from the enterohepatic circulation to the central nervous system. **Frontiers in neuroscience**, v. 11, p. 617, 2017.

### **Mesentério. In: WIKIPÉDIA: a enciclopédia livre.**

Wikimedia, 2006. Acesso em: 23/09/2021. Disponível em: <<https://pt.wikipedia.org/wiki/Mesent%C3%A9rio#/media/Ficheiro:Gray617.png>>.

### **Uma Proposta Hipótese de Modulação do Microbioma Intestinal relacionada à Cinética Molecular Sistêmica**

## ABREVIATURAS

- ABP** - Ácido Biliar Primário
- ABS** - Ácido Biliar Secundário
- BDL** - *Bile Duct Ligation* (cirurgia de Ligação/Oclusão de Duto Biliar)
- CCK** - *Cholecystokinin* (colecistoquinina)
- CEH** - Circulação Entero-Hepática
- CHC** - Carcinoma HepatoCelular
- CNH** - Ciência da Nutrição Humana
- CPH** - Circulação Porta-Hepática
- DM2** - *Diabetes Mellitus* tipo 2
- FXR** - *Farnesoid X Receptor* (Receptor Farnesoid X)
- HFD** - *High Fat Diet*, Dieta Rica em Gordura
- LPS** - LipoPolisSacarídeos (endotoxinas)
- MIH** - Microbioma Intestinal Humano
- NAFLD** - *Non Alcoholic Fatty Liver Disease* (esteatose hepática não alcoólica)
- NKT** - Linfócito “*Natural Killer T*”
- OTU** - *Operational Taxonomic Units* (unidades taxonômicas operacionais)
- PCR** - *Polymerase Chain Reaction* (reação em cadeia da polimerase)
- PUFA** - *PolyUnsaturated Fatty Acids* (ácidos graxos poli-insaturados)
- ROS** - *Reactive Oxygen Species* (espécies reativas de oxigênio)
- SCFA** - *Short Chain Fatty Acids* (ácidos graxos de cadeia curta)
- SLM** - Sistema Linfático Mesentérico
- SII** - Síndrome do Intestino Irritável
- TGI** - Trato Gastro-Intestinal
- VDR** - *Vitamin D Receptor* (Receptor de Vitamina D)

## SUMÁRIO

<b>1 - Introdução.....</b>	<b>13</b>
<b>2 - Objetivo.....</b>	<b>14</b>
<b>3 - Justificativa.....</b>	<b>15</b>
<b>4 - Metodologia.....</b>	<b>16</b>
<b>5 - Referencial Teórico.....</b>	<b>17</b>
<b>5.1 - Digestão e Microbioma Intestinal em Mamíferos.....</b>	<b>17</b>
<b>5.2 - PCR do gene ribossomal 16S e análise Bioinformática.....</b>	<b>19</b>
<b>5.3 - Definição da Bile.....</b>	<b>20</b>
<b>5.4 - Relatos Sobre os Estudos da Bile na Antiguidade.....</b>	<b>21</b>
<b>5.5 - A anatomia da Árvore Biliar e a Circulação Entero-Hepática.....</b>	<b>22</b>
<b>5.6 - A composição e as funções da Bile.....</b>	<b>25</b>
<b>6 - Resultados da Revisão.....</b>	<b>26</b>
<b>6.1 - Ácidos Biliares, Microbioma, Dietas Hiperlipídicas e Obesidade.....</b>	<b>26</b>
<b>6.2 - Ácidos Biliares, Microbioma Intestinal e Doença Inflamatórias no TGI..</b>	<b>28</b>
<b>6.3 - O Microbioma Intestinal e as obstruções na Árvore Biliar.....</b>	<b>29</b>
<b>6.4 - Processos inflamatórios no Fígado e o Microbioma Intestinal.....</b>	<b>30</b>
<b>6.5 - Ácidos Biliares, Microbioma Intestinal e Carcinoma Hepatocelular.....</b>	<b>31</b>
<b>6.6 - Metabolismo de Xenobióticos e Microbioma Intestinal.....</b>	<b>32</b>
<b>7 - Conclusão.....</b>	<b>33</b>
<b>8 - Referências.....</b>	<b>34</b>

## 1 - INTRODUÇÃO

Os estudos sobre o Microbioma Intestinal Humano (MIH) correlacionam-se à Ciência da Nutrição Humana (CNH). Todo alimento ingerido terá sua digestão, absorção e consequente nutrição, relacionadas à ecologia do MIH. Na CNH, elaborar condutas dietoterápicas específicas para diferentes condições de saúde envolve, também, compreender minimamente as reações do MIH com a alimentação do comensal/hospedeiro.

Em condições naturais, todo mamífero é hospedeiro de um microbioma que habita superfícies epiteliais - como pele e Trato Gastro-Intestinal (TGI). Há décadas é observado o papel do MIH na saúde, mas apenas no início do século XXI as pesquisas nessa área puderam avançar muito. Hoje os estudos sobre o MIH dispõem de técnicas de análise genética (PCR do gene ribossomal 16-S de procariotos) e algoritmos estatísticos que proporcionam possibilidades de compreensão muito maiores sobre a ecologia de procariotos residentes no MIH. Entretanto, estas técnicas ainda não demonstram muita precisão para avaliar fungos residentes (por serem eucariotos) e vírus (que não possuem células e ribossomos).

Diversos estudos abordam como é formada a configuração ecológica do intestino, principalmente em relação aos procariotos residentes. Existe a herança materna do MIH (**WAMPACH, 2018**) (no momento do “parto normal” e/ou da amamentação) e também a modulação ambiental sobre o MIH, dentre outros fatores, através da alimentação ao longo da vida (a dieta enquanto moduladora ambiental/ecológica do MIH).

Hoje é possível compreender melhor sobre como a constituição ecológica do MIH parece estar correlacionada a diferentes condições metabólicas e patológicas do hospedeiro. Pessoas que consomem a mesma dieta mas que possuem diferentes microbiomas podem ou não desenvolver certas características metabólicas (**HARTSTRA, 2016**), inclusive algumas permanecendo eutróficas e outras desenvolvendo obesidade (**RIDAURA, 2013**).

É possível pensar em como acontecem interações do MIH com diferentes substâncias presentes no lúmen do TGI. Diferentes moléculas no lúmen do TGI podem ser originadas de tudo o que é ingerido, ou podem ser metabólitos originados do microbioma, ou ainda podem ter origem na própria bile emitida pelo organismo do hospedeiro. A bile é um líquido produzido no fígado e constitui-se de diversas e complexas moléculas, endógenas ou até mesmo xenobióticos. A partir do Duodeno, a bile passa a constituir o bolo fecal, e juntamente com o resíduo dos alimentos é degradada microbianamente. Existe um papel da bile na modulação do MIH e os metabólitos decorrentes destas reações podem circular pela Circulação Entero-Hepática (CEH). Este trabalho propõe uma revisão sobre estes temas.

## **2 - OBJETIVO**

É possível observar a hipótese de que haja uma interação constante, no lúmen do TGI, entre o microbioma intestinal, a bile e o bolo alimentar, que podem modular-se mutuamente e determinar a capacidade nutritiva da dieta e aspectos metabólicos do comensal/hospedeiro **(VISCONTI, 2019)**.

E é evidente que diferentes pessoas com diferentes padrões ecológicos nos seus microbiomas apresentam diferentes respostas a uma mesma dieta **(NIEUWDORP, 2014)**. Portanto, este trabalho busca revisar a literatura científica, através da revisão de artigos, e narrar como algumas destas inter-relações acontecem.

### 3 - JUSTIFICATIVA

O atual crescimento da quantidade de estudos sobre o MIH evidencia a sua importância na saúde humana. O MIH correlaciona-se diretamente à nutrição, e indiretamente a várias características metabólicas do hospedeiro.

Sabe-se que a alimentação influencia a composição ecológica do MIH, e que o MIH influencia a capacidade nutritiva e metabólica da alimentação (KOŁODZIEJCZYK, 2019). Mas no lúmen do TGI há mais elementos a serem observados além dos resíduos alimentares e do microbioma residente. A bile constitui-se como uma substância oriunda do fígado e com enorme importância modulatória sobre a ecologia do MIH, estando presente no TGI a partir do duodeno e compondo a formação do bolo fecal em condições normais.

À luz de todo este campo de conhecimento, observa-se que hoje a Ciência da Nutrição Humana (CNH) oriente-se com enorme interesse às pesquisas sobre a composição ecológica do MIH, pois este conhecimento possibilitaria pesquisas sobre como as dietoterapias poderiam ser moduladas conforme cada microbioma intestinal interagindo com diferentes padrões alimentares.. Desta forma, os estudos do MIH constituem-se como uma nova fronteira científica para a CNH, e justifica-se nisso a importância deste trabalho.

#### 4 - METODOLOGIA

A pesquisa foi feita em julho/2021, através do website “Google Acadêmico” (Disponível em: “<https://scholar.google.com.br/>”), com a sintaxe “bile microbiome”. Foram selecionados artigos publicados de 2017 até 2021 (definiu-se subjetivamente artigos publicados até, aproximadamente, 5 anos atrás). Também houve uma preocupação com o Fator de Impacto das revistas onde os artigos foram publicados. Da busca e da seleção, obtiveram-se **16 artigos científicos**, cujos quais abordam diversas interações entre a Bile e o Microbioma Intestinal Humano (MIH). Os artigos selecionados são:

<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Título</b>
Ma, Chi <i>et al</i>	2018	Gut microbiome-mediated bile acid metabolism regulates liver cancer via NKT cells
Wu, Liwei <i>et al</i>	2021	The gut microbiome-bile acid axis in hepatocarcinogenesis
ZHENG, Xiaojiao <i>et al.</i>	2017	Bile acid is a significant host factor shaping the gut microbiome of diet-induced obese mice
Li, Rumei <i>et al</i>	2021	Gut microbiome and bile acids in obesity-related diseases
Cabrera-Rubio, Raul <i>et al</i>	2019	Cholestasis induced by bile duct ligation promotes changes in the intestinal microbiome in mice
Grigor’eva, Irina N. <i>et al</i>	2020	Gallstone disease and microbiome
Funabashi, Masanori <i>et al</i>	2020	A metabolic pathway for bile acid dehydroxylation by the gut microbiome
Jia, Baolei <i>et al</i>	2021	Diet-related alterations of gut bile salt hydrolases determined using a metagenomic analysis of the human microbiome
Nichenametla, S.N. <i>et al</i>	2020	Differential Effects of Sulfur Amino Acid-Restricted and Low-Calorie Diets on Gut Microbiome Profile and Bile Acid Composition in Male C57BL6/J Mice
Connors J <i>et al</i>	2020	The relationship between fecal bile acids and microbiome community structure in pediatric Crohn’s disease
Kuipers, Folkert <i>et al</i>	2020	Microbiome Modulation of the Host Adaptive Immunity through Bile Acid Modification
Evangelakos, Ioannis <i>et al</i>	2021	Role of bile acids in inflammatory liver diseases
Adolph, Timon E. <i>et al</i>	2018	Liver-Microbiome Axis in Health and Disease
Shao, Jun Wei <i>et al</i>	2021	Role of bile acids in liver diseases mediated by the gut microbiome
Jacobs, Jonathan P. <i>et al</i>	2018	Microbiome and bile acid profiles in duodenal aspirates from patients with liver cirrhosis: The Microbiome, Microbial Markers and Liver Disease Study
Quinn, Robert A. <i>et al</i>	2020	Global chemical effects of the microbiome include new bile-acid conjugations

## 5 - REFERENCIAL TEÓRICO

### 5.1 - Digestão e microbioma intestinal em mamíferos

Todos os mamíferos possuem um microbioma específico, e as características fisiológicas do animal hospedeiro correlacionam-se profundamente com o seu microbioma residente. Por exemplo, sabe-se que o sistema nervoso do hospedeiro recebe estímulos do MIH através de aminas biogênicas de origem bacteriana (SUDO, 2019). Sobre a formação do MIH, estuda-se a colonização neonatal do MIH em diversas condições (GRITZ, 2015). O Microbioma Intestinal pode ter papel fundamental na imunidade e na nutrição do animal.

- As vacas possuem um estômago compartimentalizado, onde bactérias começam a degradar a celulose das folhas ingeridas ainda antes do “*estômago ácido*” (omaso e abomaso), nos locais chamados de *rúmen* e *retículo*. O bolo alimentar no *rúmen* fica retornando à boca do animal ao longo do dia, no processo denominado de “*ruminação*”, onde a mastigação aumenta a superfície de contato do alimento, facilitando a degradação bacteriana. Depois, no “*estômago ácido*”, bactérias são mortas e todas as proteínas começam a ser digeridas. A degradação bacteriana da celulose no *rúmen* gera ácidos graxos saturados de cadeia curta (SCFA, “*Short Chain Fatty Acids*”), que são, principalmente, *acetato*, *propionato* e *butirato*. Estes ácidos graxos são absorvidos no intestino delgado do animal, juntamente com aminoácidos originados da digestão de proteínas das folhas, da mesma forma que nós, humanos, absorvemos ácidos graxos e aminoácidos no intestino delgado (SUTTON, 1985). Antibióticos no lúmen do TGI podem comprometer seriamente a nutrição do animal;
- Os cavalos hospedam bactérias que degradam a celulose do capim no ceco, porção inicial do “*intestino grosso*”. As folhas ingeridas pelo animal passam pela boca onde são mastigadas, e no estômago modificam-se com a acidez, iniciando a digestão de proteínas das folhas. Entretanto, as fibras (celulose) das folhas passam pelo estômago e pelo intestino delgado sem serem suficientemente degradadas e sem gerarem muitos nutrientes a serem absorvidos. Grande parte do substrato energético extraído da celulose das folhas são os SCFA, originados da degradação bacteriana no Ceco, que serão absorvidos no intestino grosso (HINTZ, 1975). Isso significa que mamíferos podem ter absorção de substratos energéticos ao fim do TGI, e isso pode trazer questionamentos sobre a absorção de nutrientes no Cólon. Antibióticos no lúmen do TGI podem comprometer seriamente a nutrição do animal;

- Os gatos, que são felinos e estritamente carnívoros, possuem um cólon mais curto. As carnes que consomem constituem-se de proteínas e gorduras que são digeridas no estômago e no intestino delgado, restando poucos resíduos a serem encaminhados ao intestino grosso. Entretanto, resíduos de proteínas não digeridas podem gerar compostos Nitrogenados (Aminas Biogênicas) (**WÓJCIK, 2021**) ou Sulfurados, que apresentam diferentes níveis de toxicidade direta, e que também podem modificar a ecologia do microbioma intestinal e acabar causando toxicidade indireta mediada por metabólitos bacterianos (**PUGIN, 2017**). É vantajoso para os carnívoros, portanto, ter um intestino grosso que seja mais curto, onde haja menos tempo para eventuais degradações bacterianas desnecessárias e até mesmo prejudiciais (**ZENTEK, 2009**);

- Criados para a produção de carne para consumo humano, Galinhas e Porcos recebem antibióticos frequentemente (**KOGUT, 2019**). Um dos motivos é para controlar a população de microorganismos patobiontes residentes no microbioma intestinal, que podem causar processos inflamatórios e doenças (**CHOW, 2011**). Além disso, sabe-se que diferentes animais, a exemplo dos porcos e das galinhas, comendo a mesma ração, extraem diferentes quantidades de nutrientes, e isso se deve à fisiologia e ao microbioma intestinal do animal, que apresentam diferentes níveis de “colheita de nutrientes” da dieta. Portanto, podemos inferir que planejar a nutrição de um animal, apenas baseando-se em análises bromatológicas do conteúdo da ração, não significa que o animal será nutrido com todos os nutrientes;

As especificidades de cada espécie animal nos mostram diferentes possibilidades de interação entre o Microbioma Intestinal e a fisiologia dos mamíferos. É comum que consideremos, nos estudos da Saúde e da Nutrição Humana, que o sistema digestório tenha certo padrão de comportamento fisiológico. Entretanto, podemos entender que variações na constituição ecológica do microbioma, bem como diferentes níveis de variações fisiológicas no Ser Humano, como alterações na digestão e/ou na permeabilidade intestinal, podem afetar o estado nutricional e metabólico de forma muito complexa e imprevisível. A dieta pode modular o MIH, e há evidências que apontam que dietas hiperlipídicas podem ser modelos reprodutíveis de indução à *disbiose* intestinal no MIH (“*disbiose*” significa haver uma situação diferente daquela que pode ser chamada de “*eubiose*”, e a “*eubiose*” seria uma “ótima configuração ecológica” do MIH em relação à saúde do hospedeiro) (**BISANZ, 2019**), indicando que certos modelos dietéticos podem ter reações previsíveis sobre o MIH.

## 5.2 - PCR do gene ribossomal 16-S e análise Bioinformática

A ciência busca analisar o MIH há décadas. Antigamente, amostras de fezes eram cultivadas em *placas de petry*, mas hoje sabemos que essa metodologia de análise era muito imprecisa, pois desta forma apenas sobrevivem os micro-organismos que resistem ao ambiente fora do intestino. Atualmente, para estudar-se a ecologia do microbioma e seus respectivos microrganismos, utilizam-se análises metagenômicas com a técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (QIN, 2010).

Micro-organismos unicelulares procariotos possuem ribossomos livres. Estes ribossomos apresentam o RNA ribossomal, e este RNA apresenta o gene chamado de 16S. Diferentes espécies de procariotos apresentam o gene ribossomal 16S exclusivo, e isso possibilita que sejam identificados os procariotos utilizando-se este gene como um “marcador filogenético”, identificável no banco de dados “OTU” (*Operational Taxonomic Units*).

Hoje, as etapas de uma análise de microbioma geralmente são:

- 1 - Coleta de Amostras (fezes, epitélios...) e provável congelamento;
- 2 - Utilização das amostras para realizar a PCR, com a utilização do primer do gene 16S ribossomal;
- 3 - Sequenciamento Genético das amostras e criação de um arquivo de computador com os resultados;
- 4 - Os arquivos de texto gerados pelo sequenciador passam a ser trabalhados em computadores. Inicia-se a bioinformática, quando estes arquivos são correlacionados ao banco de dados OTU. Realiza-se uma “limpeza de falsas quimeras” (genes sem correspondência com seres vivos reais, geralmente originadas de erros no sequenciamento). E após a limpeza, os diferentes genes 16S são identificados na OTU para haver identificação e quantificação percentual dos diferentes procariotos da amostra.
- 5 - Após os resultados de todas as análises, é possível identificar filós, gêneros e espécies de muitos procariotos, e desta forma as pesquisas sobre MIH evoluem hoje.

Decorrentes de todas estas técnicas e análises, estudos hoje tentam identificar procariotos presentes no MIH em diferentes situações metabólicas do hospedeiro. Os filós *Firmicutes* e *Bacteroidetes* têm sido utilizados como “marcadores” do equilíbrio ecológico do MIH. Podemos entender que cada espécie, gênero ou filo de procariotos representa uma variável, e estas variáveis formam correlações muito complexas entre si e entre o hospedeiro. E apenas utilizando a grande capacidade de memória e a velocidade de computadores atuais é possível fazer estudos bioinformáticos mais precisos sobre a ecologia do MIH.

### 5.3 - Definição da Bile

A bile é um complexo líquido composto por água, eletrólitos (minerais), e diversas moléculas orgânicas como colesterol, colina, fosfolipídios, ácidos biliares e bilirrubina (metabólito da hemoglobina degradada e que confere coloração amarelada ao líquido), além de metais pesados e xenobióticos que são excretados do fígado através da bile (**HALL 2011**).

A excreção de bile é importante na digestão de gorduras, na motilidade intestinal, na modulação do microbioma intestinal e na eliminação de xenobióticos (**KLAASSEN, 1975**). A bile apresenta características anfipáticas, solubilizando tanto moléculas polares como moléculas apolares, as quais podem também ter alta massa molecular (**YANG, 2009**). A bile é produzida no fígado, armazenada na vesícula biliar, e sob o estímulo do hormônio CCK é lançada no intestino delgado através do esfíncter de Oddi, após passar pelo colédoco. Seres Humanos produzem uma média de 600ml a 1000ml de Bile por dia, sob diversas influências.

No duodeno, a presença do quimo ácido (bolo alimentar modificado no estômago) estimula as “Células S” e as “Células I” a secretarem hormônios fundamentais no processo digestivo. Os principais componentes alimentares que estimulam isso são aminoácidos, pequenos peptídios e ácidos graxos de cadeia longa (**JOHNSON, 2013**).

As “Células S” são estimuladas principalmente pela acidez do quimo advindo do estômago. Elas produzem o Hormônio Peptídico “Secretina”, que dentre várias funções, estimula a produção e emissão de enzimas digestivas pelo Pâncreas Exócrino e a produção de Bile no Fígado.

As “Células I” produzem o Hormônio Peptídico Colecistocinina (CCK, também produzido pelo sistema nervoso central). O CCK promove o contrações na vesícula biliar e o relaxamento do esfíncter de oddi (efeito colagogo), agindo em sinergia com a Secretina que estimula a produção de Bile.

A composição específica da bile, as quantidade produzidas e emitidas, a interação dela com o bolo alimentar no Trato Gastrointestinal (*TGI*) e com todo o microbioma intestinal são objetos de um abrangente campo de estudos nas ciências da saúde humana. Todas estas características da Bile podem ser estudadas e relacionadas a diferentes sintomas e diferentes patologias.

#### 5.4 - Relatos sobre os estudos da Bile na antiguidade

Em diferentes culturas a Bile foi estudada e observada em suas relações a estados de saúde. E diferentes tradições médicas deixaram registros históricos sobre estes estudos.

O famoso médico grego Hipócrates (**REZENDE, 2009**) definiu que a saúde humana apresentaria quatro “humores” (*khymós*, descritos em sua obra “*Peri physion anthropoy*”, traduzida como *Da Natureza do Homem*), que seriam o *Sangue*, a *Fleuma*, a *Bile Amarela* e a *Bile Negra*. Ele afirmava que quando algum destes humores estaria em falta ou em excesso surgiriam as doenças. E haveria uma tendência da natureza (*Physis*) em corrigir desequilíbrios (*discrasia*), promovendo um estado saudável (*eucrasia*). Hipócrates também definiu quatro principais linhas de tratamento para corrigir desequilíbrios nos quatro humores, que eram a *sangria*, os *purgativos*, os *eméticos* e os *enemas*.

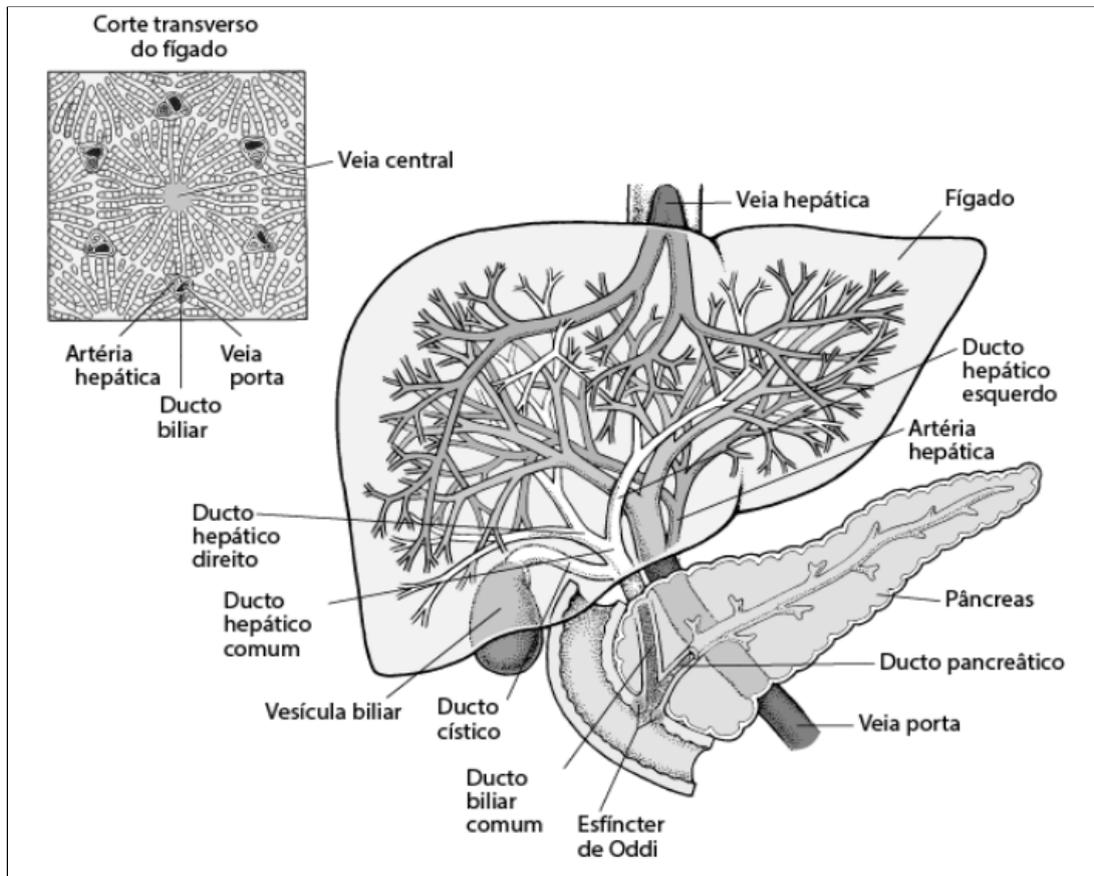
Séculos mais tarde, o médico greco-romano Galeno revisitou as teorias de Hipócrates e criou conceitos sobre a saúde humana que perduraram por mais de um milênio no Ocidente. Ele passou a relacionar a ideia dos "humores" de Hipócrates com o comportamento humano, criando conceitos como “bom humor” e “mau humor”. As seguintes classificações exemplificam isso: Coléricas (*cholé* significa bile em grego) eram pessoas com excesso de Bile Amarela, apresentando um comportamento mais raivoso, e Melancólicas (*melános* significa negro em grego, e *cholé*) eram pessoas com excesso de Bile Negra, e apresentariam um comportamento mais Triste. É óbvio destacar que estas correlações simples entre a bile e a saúde humana não perduraram até os dias de hoje, por diversos motivos.

Na medicina tradicional indiana, a *Ayurveda*, a Bile é uma substância muito observada. Ela está relacionada às qualidades digestivas e comportamentais do *Dosha Pitta* (**D’ANGELO 2008**). *Doshas* são uma classificação de “tipos metabólicos de corpo humano”, e *Pitta* é um *Dosha* ligado aos elementos água e fogo, com qualidades quentes, úmidas, ácidas, tendência a ter raciocínio rápido, comportamento reativo ou agressivo, e tudo isso se correlaciona a uma grande produção ou retenção de Bile no fígado.

Na *Medicina Tradicional Chinesa* (MTC) a bile, a vesícula biliar e o fígado estão relacionados ao elemento *Madeira* (**WANG, 2011**). O “resíduo” do *Qi* (uma definição para “energia vital”) do órgão fígado gera a Bile. E o correto fluxo biliar é determinado pela saúde do fígado. Na MTC o fígado “domina as ideias” e a vesícula biliar “domina as atitudes”.

É importante destacar que ainda hoje a *Ayurveda* e a MTC são utilizadas terapeuticamente, e há inclusive trabalhos científicos que tentam correlacionar estas visões com o atual campo científico hegemônico, baseados no *método científico* (**HADDAD, 2004**).

## 5.5 - A anatomia da Árvore Biliar e a Circulação Entero-Hepática



Visão "Janela Hepática" (MANUAL MSD, 2020)

Árvore Biliar é o conjunto de canais e órgãos por onde a bile é produzida e conduzida até chegar ao duodeno (HEALEY, 1953). A bile é produzida nos hepatócitos e é direcionada pelos ductos biliares intra-hepáticos, que ligam-se ao colédoco, o qual liga-se também à vesícula biliar e ao pâncreas.

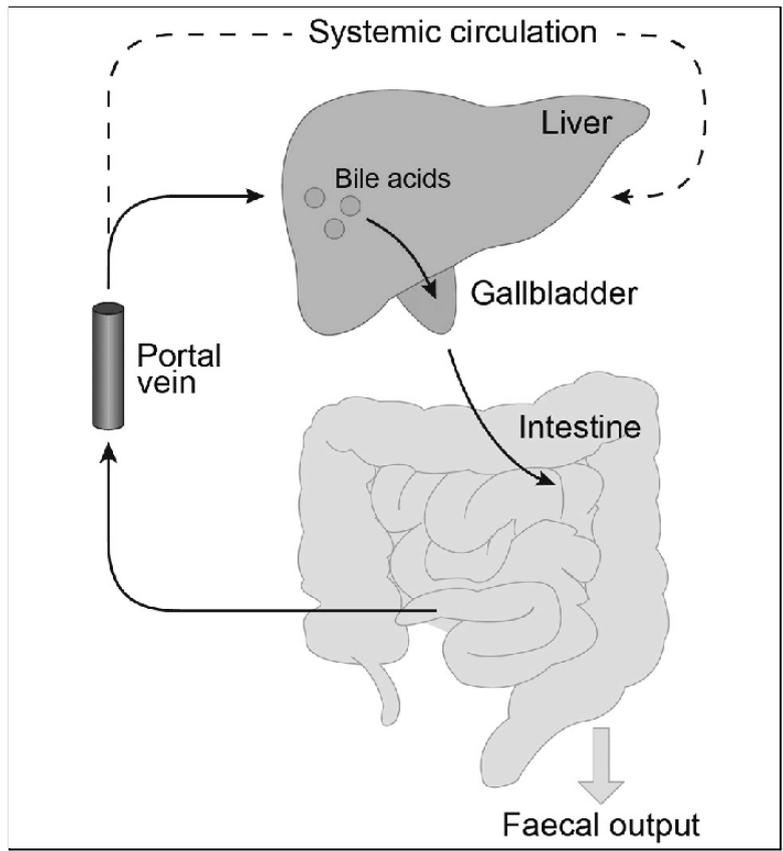
O Colédoco, ou Ducto Biliar Comum, é o trecho da árvore biliar que liga o Fígado, a Vesícula Biliar, o Pâncreas e, através do Esfíncter de Oddi, o Duodeno (CASTAING, 2008). O Esfíncter de Oddi liga o final do Colédoco ao Duodeno (BOSCH, 2007). A contração deste esfíncter é estimulada por hormônios produzidos por células no epitélio intestinal, como a Secretina e a Colecistoquinina (CCK).

A bile é produzida no fígado (ELLIOTT, 1971) e é coletada pelos ductos biliares intra-hepáticos, e logo após é direcionada ao colédoco, podendo ir para a Vesícula Biliar e ali ser concentrada, ou podendo ir diretamente para o duodeno.

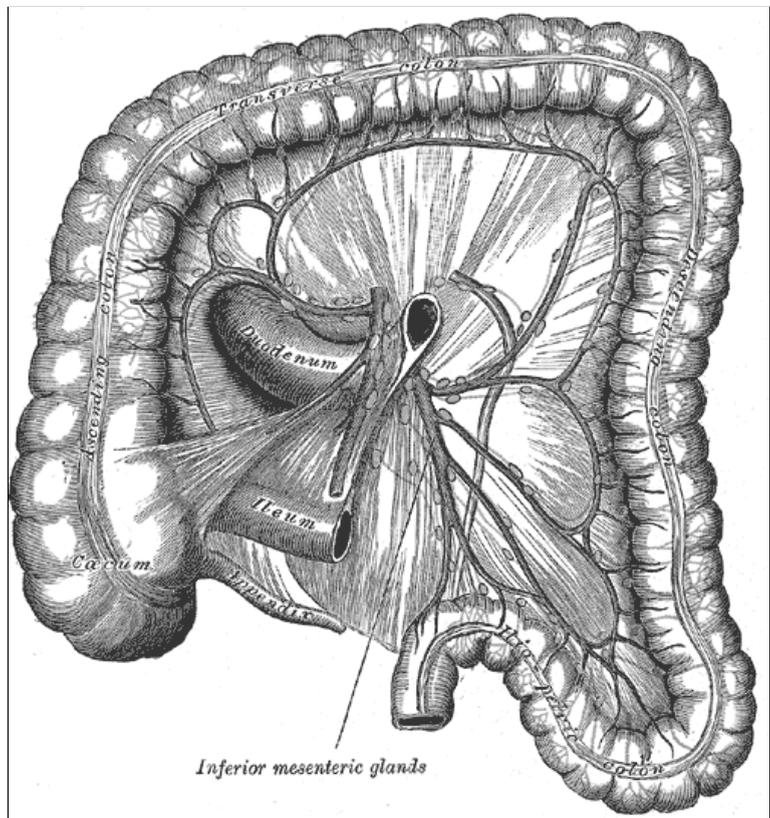
A Vesícula Biliar é um pequeno órgão que parece ter um formato de pera, que mede de 7cm a 10cm de comprimento e 4cm de largura (**JONES, 2020**). Nela é armazenada a bile produzida no Fígado e direcionada pelo Colédoco. Neste processo de armazenamento, dependendo da composição química da bile e de fatores fisiológicos de motilidade, pode haver a precipitação de cálculos, os quais podem causar diversos problemas inflamatórios na árvore biliar (*Síndrome de Mirizzi*) e são uma causa comum de tratamento medicamentoso com *sais biliares bovinos* (**FORDTRAN, 1982**) ou com *ácido ursodesoxicólico* (**NAKAGAWA, 1977**) ou até mesmo cirúrgico, com a remoção da vesícula biliar (a cirurgia chamada de *colecistectomia*) (**REYNOLDS, 2001**).

Após emitida ao intestino delgado, a bile participa do processo digestivo do quimo, que se transforma em bolo fecal. Muitas moléculas que entraram no lúmen do TGI, trazidas pela bile, podem ser reabsorvidas, modificadas ou não. O conjunto das moléculas (re)absorvidas pelo epitélio intestinal constitui-se como um *metaboloma*. Quando as moléculas são apolares a cinética delas pode acontecer através de quilomícrons (**MANSBACH, 1985**), da absorção pelos enterócitos à sua mobilidade por uma rede de canais denominada Sistema Linfático Mesentérico (SLM) (**CHIKLY, 1997**).

Do SLM estas moléculas encaminham-se para o fígado, passando pela Circulação Porta-Hepática (CPH), e no órgão podem ser solubilizadas novamente em Bile e participarem de mais um ciclo. Este ciclo de moléculas “da bile ao intestino e do intestino à bile” exemplifica a Circulação Entero-Hepática (CEH). Ainda no SLM, um grande volume de moléculas apolares pode exercer pressão sobre os vasos linfáticos (**BRESLIN, 2014**). De fato, o alto fluxo de moléculas apolares pelo SLM pode estar relacionado à incidência de quadros de inflamação crônica e subclínica, e ao aumento da circunferência abdominal pela hipertrofia de tecido adiposo nesta região (**CHAKRABORTY, 2010**), que em termos antropométricos é chamada de “gordura visceral”. É importante observar que xenobióticos e metais pesados podem persistir no organismo por ficarem “re-ciclando” na CEH (**DUTCZAK, 1991**).



*Circulação Entero-Hepática (MERTENS, 2017)*



*Mesentério (WIKIPEDIA, 2021)*

## 5.6 - A composição e as funções da Bile

A bile apresenta diversas funções (DAWSON, 2018):

1 - A bile é a maior rota de excreção de “metais pesados”, moléculas lipofílicas endógenas (bilirrubina, colesterol e esteroides como os resíduos de estrógenos) e moléculas lipofílicas exógenas (xenobióticos que podem ser metabólitos de origem microbiana, de fármacos ou de poluentes ambientais presentes no fígado) (MILLBURN, 1976);

2 - A presença de bile é fundamental para a digestão de lipídios no lúmen do intestino delgado, favorecendo a digestão de triglicerídeos, e assim melhorando também a absorção de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) (ANDREWS, 1981). A bile apresenta um efeito “detergente”, anfipática, diminuindo o tamanho e aumentando a quantidade de micelas lipídicas, auxiliando a ação digestiva das lipases pancreáticas que são hidrossolúveis;

3 - O metabolismo e a circulação biliar estão relacionados à homeostase do colesterol de todo o organismo, inclusive observando-se correlações entre a presença e a qualidade da bile com os níveis de lipoproteinemia (LDL, HDL e VLDL) (SUCKLING, 1991);

4 - A bile (i.e. todas as suas moléculas constituintes, dentre elas os ácidos biliares) modula a quantidade, a qualidade e a diversidade do microbioma intestinal (ISLAM, 2011), e consequentemente modulando também o sistema imune do hospedeiro do microbioma;

5 - Os ácidos biliares podem ou prevenir ou promover a formação de cálculos de colesterol e/ou de cálcio na vesícula biliar, e no TGI os ácidos biliares podem agir como hormônios, interferindo no metabolismo energético dos enterócitos e na motilidade intestinal. Há muitos receptores (TICHO, 2019) onde os ácidos biliares agem como hormônios (Receptor Farnesoid X, Receptor da Vitamina D, Receptor Pregnano X e Receptor Constitutivo de Androstano).

Dentre os constituintes da bile está o seu pigmento amarelado, a bilirrubina (originada na degradação de hemoglobina no baço). A bilirrubina degradada no intestino, por ação do MIH, gera pigmentos de cor marrom. Portanto, se hipoteticamente uma pessoa apresente “*colestase*” (*chole* é bile, *stasis* é paralisia; quando há uma paralisação da emissão de bile no intestino delgado) as fezes podem ficar claras (“*esbranquiçadas*”), sendo este um sinal semiológico denominado de *Acolia*. Da mesma forma, se uma pessoa em *colestase* consumir gorduras em sua dieta, não havendo ou havendo pouca bile no TGI, é esperado que haja um quadro de *esteatorreia*, que significa haver fezes gordurosas, amolecidas e que tornam-se flutuantes na água do vaso sanitário. Estes sinais são comuns em hepatopatias.

## 6 - RESULTADOS DA REVISÃO

### 6.1 - Ácidos Biliares, Microbioma Intestinal e Padrão Alimentar

A CNH estuda, também, os diversos efeitos que determinados alimentos promovem no organismo. A quantidade de gorduras na dieta modula a quantidade de moléculas lipossolúveis, apolares, que são absorvidas do metaboloma luminal ao TGI. Tanto vitaminas e compostos bioativos apolares, como também toxinas apolares, são mais absorvidos com dietas hiperlipídicas. E gorduras e proteínas na dieta formam um quimo com acidez suficiente para promoverem o *Efeito Colagogo* (LIPSCHUTZ, 1941) - a excreção de bile ao duodeno.

Modelos animais podem ter Esteatose Hepática induzida por uma dieta rica em gorduras e sacarose, o que mimetizaria um *padrão dietético ocidental* (ISHIMOTO, 2013). Uma dieta rica em gorduras pode produzir alterações no epitélio intestinal, aumentando a permeabilidade e diminuindo a seletividade de moléculas absorvidas do TGI (ROHR, 2020).

Dietas ricas em gorduras podem alterar a ecologia do MIH (ARAÚJO, 2017) e a composição do “*pool*” de ácidos biliares e, com a bioinformática, bancos de dados de metagenômica e metabolômica podem ser utilizados para evidenciar isso. Diferentes bactérias no MIH podem produzir enzimas chamadas de “Hidrolases de Ácidos Biliares”, que podem ter efeitos no hospedeiro, agindo sobre o microbioma no lúmen do TGI, ou agindo no fígado após absorvidas pelo organismo do hospedeiro. Diferentes modelos dietéticos apresentam diferentes modulações no MIH, e podem ser correlacionados à modulação sobre as quantidades de Hidrolases de Ácidos Biliares no TGI (JIA, 2021).

Técnicas como a utilização de cobaias “*germ-free*”, e a manipulação de bactérias do MIH que são coletadas, modificadas geneticamente e re-inoculadas, ajudam a identificar os diferentes *pathways* metabólicos nas modificações dos ácidos biliares pelo microbioma intestinal. Especula-se que estaria surgindo aqui a possibilidade para uma nova “engenharia”, que “modularia” o microbioma intestinal e o *pool* de ácidos biliares (FUNABASHI, 2020).

Hoje há também debates sobre hipóteses de aumento de longevidade em mamíferos com a aplicação de certos modelos dietéticos. É observado que Dietas Hipocalóricas e Dietas com Restrição de Aminoácidos Sulfurados (com a restrição de metionina e cisteína, que na prática aplica-se com a redução de proteínas dietéticas de origem animal) podem aumentar a longevidade (LONGO, 2019). Hipóteses que relacionam determinadas dietas ao aumento de longevidade também podem ser investigadas observando-se modulações na composição do microbioma intestinal e do *pool* de ácidos biliares (NICHENAMETLA, 2020).

A Síndrome Metabólica caracteriza-se pela ocorrência simultânea de eventos como as dislipidemias (alterações nos níveis séricos de HDL, LDL e VLDL), sinais de aumento da resistência periférica à insulina e surgimento de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), e podendo também estar relacionada à incidência de obesidade e NAFLD (“*Non Alcoholic Fatty Liver Disease*”, Esteatose Hepática de origem não alcoólica) (HAN, 2015). E todos estes eventos estão relacionados à disbiose do MIH.

São observadas configurações ecológicas específicas do MIH que podem ser consideradas “disbioses”, estudadas em relação a diversas patologias, dentre elas DM2, obesidade e síndrome metabólica (DABKE, 2019) (LI, 2021). Da mesma forma, em relação a estas patologias, estudam-se os padrões da composição do *pool de* ácidos biliares encontrados no metaboloma intestinal, correlacionando metaboloma fecal à ecologia do MIH (ZIERER, 2018).

Na busca por identificar micro-organismos, seus metabólitos e suas reações metabólicas no organismo do hospedeiro, observou-se que há indivíduos com DM2 que apresentam um aumento sérico de LPS e de marcadores de inflamação sistêmica, e correlaciona-se a isso a ecologia do MIH, com menor quantidade de Bifidobactérias e maior quantidade de Bacteroidetes (SALAZAR, 2020). Em casos de obesidade parece haver maiores populações de *Staphylococcus aureus* e *Enterobacteriaceae* compondo a configuração ecológica do MIH.

Utilizando análises com bioinformática é possível correlacionar grandes conjuntos de dados, como conjuntos de dados de metagenômica e de metabolômica. Ratos que receberam HFD (“*High Fat Diet*”, Dieta Rica em Gordura) apresentaram alterações significativas na composição dos metabolomas de amostras do ceco, e notadamente essas diferenças ocorreram no “*pool*” de ácidos biliares (ZHENG, 2017), e desenvolveram obesidade. Uma dieta rica em gorduras promove alterações na composição ecológica do MIH e também alterações nos tipos de ácidos biliares presentes no metaboloma proveniente do MIH, além de alterações no epitélio do TGI (aumentando a permeabilidade intestinal, leaky gut), e todos estes eventos são inter-relacionados à obesogênese.

## 6.2 - Ácidos Biliares, Microbioma Intestinal e Doença Inflamatórias no TGI

A *Doença de Crohn* é uma doença inflamatória que acomete o TGI (LAASS, 2014). Além dela, outras formas de inflamações de epitélios do TGI são a gastrite e a retocolite. Na etiologia destas enfermidades os fatores genéticos são relevantes, mas provavelmente há uma enorme importância em observarem-se fatores ambientais, incluindo a ecologia do microbioma que habita o TGI e que é modulada pela alimentação, pela capacidade digestiva e presumivelmente também pela presença e composição da bile no intestino.

Na disbiose relacionada aos quadros de Doença de Crohn, na ecologia do MIH os filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, que produzem modulações anti-inflamatórias na saúde do hospedeiro, parecem ter diversidade e quantidades populacionais reduzidas. E simultaneamente parece haver uma expansão populacional do filo *Proteobacteria* (CONNORS, 2020). E as mudanças da configuração ecológica do MIH nestes casos podem estar relacionadas a mudanças no metaboloma absorvido do TGI aos enterócitos, evidenciando-se isto nas evidentes modificações observadas no “pool” de ácidos biliares (proporções entre ABPs, *Ácidos Biliares Primários*; e ABSs, *Ácidos Biliares Secundários*).

Dois ácidos biliares primários sintetizados pelo fígado são o Ácido Cólico e o Ácido Quenodesoxicólico. É estimado que em torno de 5% dos ABPs não sejam reabsorvidos na CEH, os quais podem ser metabolizados por 0.0001% das bactérias residentes no cólon (RIDLON, 2006), majoritariamente do gênero *Clostridium* (STELLWAG, 1979), e que geram ABSs. Utilizando as técnicas de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas, em análises de metaboloma fecal os ácidos biliares podem ser utilizados como “biomarcadores” a serem observados. Os resultados geram bancos de dados metabolômicos que podem ser correlacionados aos Bancos de Dados gerados nas análises metagenômicas, através de scripts em linguagem “R Script” ou “Python”.

Ácidos Biliares exercem várias formas de sinalização molecular, podendo impactar no metabolismo energético de glicose e ácidos graxos e influenciando a “saúde” dos enterócitos, e também modulando o sistema imune (KUIPERS 2020). Nos enterócitos Ácidos Biliares podem agir ativando uma “Proteína G” acoplada na membrana celular, ou ativando receptores nucleares do tipo “farnesoid X receptor” (FXR), ou ainda ativando os “Receptores de Vitamina D” (*Vitamin D Receptors*, VDR). E estas sinalizações podem estar envolvidas com a gênese de processos inflamatórios do epitélio do TGI.

### 6.3 - O Microbioma Intestinal e as obstruções na Árvore Biliar

As características do fluxo de excreção biliar modulam a ecologia do MIH (TABIBIAN, 2016). Em quadros de inflamação hepática, e/ou na presença de cálculos em algum trecho da Árvore Biliar, podem ocorrer quadros de “*colestase*”. Na *colestase* a bile secretada pelo fígado não alcança o intestino delgado, seja por alguma obstrução mecânica na árvore biliar (ex.: cálculos), e/ou por processos inflamatórios na árvore biliar (ex.: *colangite*, ou ainda se houvesse qualquer condição que impeça a formação de bile (ex. deficiência de colesterol) (POPPER, 1970). A ausência ou diminuição de bile no TGI modifica a configuração ecológica do MIH (LI, 2020). Também podem ocorrer disfunções na motilidade intestinal, muitas vezes em constipação, e ainda pode ocorrer uma maior proliferação de microorganismos patobiontes e uma consequente reação do sistema imune entérico (PULENDRAN, 2001).

Em experimentos para observar isoladamente a importância da *colestase* na modulação do microbioma, ratos tiveram *colestase* induzida por “Ligação do Ducto Biliar” (BDL, *Bile Duct Ligation*), uma cirurgia que causa “obstrução mecânica” da Árvore Biliar. Desta forma se induz a ausência de bile no TGI. Um dos achados é que há um aumento populacional de *Clostridium* nos grupos que recebem a BDL (CABRERA-RUBIO, 2019).

Observa-se um processo de “retroalimentação” da *colestase*: alterações na saúde do fígado podem gerar alterações na composição, solubilidade e fluidez da bile, como litíases e inflamações nos canais da árvore biliar (*colangite*), que podem diminuir ou cessar a excreção de bile. Nesta situação de *colestase* o MIH pode ser modificado, podendo aumentar a população de bactérias gram-negativas e gerando um metaboloma com grande presença de moléculas como os LPSs (VATANEN, 2016) ou toxinas microbianas pró-inflamatórias (a exemplo das toxinas produzidas por *Clostridium sp.*, bactérias gram-positivas). Este metaboloma rico em moléculas pró-inflamatórias é absorvido e encaminhado ao fígado, favorecendo novamente a inflamação e retroalimentando o processo de *colestase*.

Todos os trechos do TGI apresentam microbiomas com diferentes conformações ecológicas. O microbioma bucal, por exemplo, tem sido estudado em relação a algumas patologias. E além do TGI, o lúmen da Árvore Biliar também apresenta um microbioma residente, e neste caso parece assemelhar-se ao microbioma do duodeno. Alterações no microbioma bucal, duodenal e biliar podem ser indicadores do surgimento de cálculos biliares (GRIGOR'EVA, 2020).

#### 6.4 - Processos inflamatórios no Fígado e o Microbioma Intestinal

É possível supor que toda hepatopatia não congênita esteja relacionada à incidência prévia e crônica de processos inflamatórios, havendo também alterações no *pool* de ácidos biliares e na composição ecológica do MIH. Hoje são testados novos modelos animais que mimetizem a composição biliar humana, possibilitando estudos que correlacionam ácidos biliares, MIH e inflamações hepáticas. Dentre os “*pathways* metabólicos” estudados em relação a diferentes ácidos biliares no TGI estão as vias de ativação de FXR (*Receptor X Farnesoid*) e VDR (*Receptor de Vitamina D*) (EVANGELAKOS, 2021).

É estimado que diversas patologias hepáticas ou metabólicas apresentem fortes correlações com diferentes conformações ecológicas do MIH. Em quadros de grave comprometimento da saúde hepática, a decorrente Encefalopatia Hepática incorre numa situação de *disbiose intestinal* e incapacidade hepática de realizar o “ciclo da ureia”, ocorrendo acúmulo de corpos nitrogenados na circulação sistêmica. Hoje investiga-se a possibilidade de identificar padrões de MIH e determinar “assinaturas microbianas” para algumas doenças (NORONHA, 2019), que poderiam ser futuramente utilizadas em diagnósticos (ADOLPH, 2018).

Um quadro de colestase pode causar uma disbiose do MIH, gerando um metaboloma pró-inflamatório que é absorvido pelo fígado e retro-alimenta a colestase. Neste contexto os antibióticos não absorvíveis que agem no lúmen do TGI podem evitar que um metaboloma excessivamente pró-inflamatório seja produzido por intermédio do MIH (a exemplo do que ocorre em quadros de *Encefalopatia Hepática* que respondem bem à antibioticoterapia com *Rifaximina*) (DE MELO, 2008).

Em análises de metaboloma observando o *pool* de ácidos biliares, é proposta uma proporção entre ácido desoxicólico e ácido cólico, ambos ABPs, como candidatos a serem “assinaturas” metabolômicas, relacionando suas variações à quadros de cirrose com episódios de endotoxemia (elevação sérica de LPSs circulante) e encefalopatia hepática (SHAO, 2021).

Amostras de “aspirado duodenal”, coletadas durante esofagogastroduodenoscopia em pacientes com cirrose, podem ser exemplo de futuras aplicações diagnósticas das análises de *pool* de ácidos biliares no metaboloma e o microbioma coletados no TGI (JACOBS, 2018).

## 6.5 - Ácidos Biliares, Microbioma Intestinal e Carcinoma Hepatocelular

Doenças do fígado são fortemente associadas a alterações na composição ecológica do MIH. A disbiose do MIH produz um metaboloma “problemático”, que é absorvido e encaminhado ao fígado através da CPH, cujo qual tem capacidade de causar “transformações cancerígenas” nos hepatócitos (**BORRELLI, 2018**).

Há na composição da bile, os ABPs, que podem ser metabolizados pelo MIH e gerarem os ABSs. Quando estes ABSs são absorvidos e retornam ao fígado, concluindo um ciclo da Circulação Entero-Hepática (CEH), é possível que ocorram interações com hepatócitos e com células do sistema imune hepático, dentre elas as células NKT (linfócitos “Natural Killer T”), relacionada à defesa anti-tumoral (**MA, 2018**).

Em modelos experimentais antibióticos são utilizados para promoverem diferentes alterações na configuração ecológica do microbioma intestinal de mamíferos. Antibióticos podem diminuir a população de procariotos patobiontes ou patogênicos, mas também podem diminuir a população de micro-organismos considerados “benéficos” (**KAMADA, 2013**). Há uma provável importância em se observar as bactérias do gênero *Clostridium* (mesmo gênero das bactérias anaeróbias causadores de colite pseudomembranosa, tétano, gangrena e botulismo), em relação às suas capacidades de metabolizarem ABPs em ABSs, e como isso pode estar correlacionado à incidência de tumores hepáticos (**WU, 2021**).

O Carcinoma HepatoCelular (CHC) é a forma mais comum de câncer de fígado, correspondendo a mais de 80% dos casos. Ácidos Biliares Secundários, encaminhados do intestino ao fígado pela CEH, podem causar no fígado processos inflamatórios, com aumento nos níveis teciduais de *espécies reativas de oxigênio* (ROS, Reactive Oxygen Species), eventualmente causando fibrose e podendo surgir um quadro de resistência a processos de apoptose e decorrente tumorigênese.

## 6.6 - Metabolismo de Xenobióticos e Microbioma Intestinal

Xenobióticos são moléculas “estranhas à vida”, e muitas destas moléculas podem ser tóxicas para seres humanos e para o MIH (TSIAOUSSIS, 2019). A maioria dos xenobióticos de interesse toxicológico são moléculas apolares e com diferentes pesos moleculares. Após entrarem no organismo por via cutânea, vias aéreas ou via oral, os xenobióticos podem chegar ao fígado e sofrerem oxidação com ácido glucurônico ou conjugação com moléculas sulfatadas e glutathiona. Moléculas apolares de menor peso molecular, e também moléculas de maior peso molecular que sofram algum processo de oxidação ou conjugação no fígado, podem ser eliminadas via renal. Mas moléculas apolares de alto peso molecular, são majoritariamente eliminadas via biliar (KLAASSEN, 1975). E xenobióticos excretados via biliar podem interagir com a composição ecológica do MIH, e há pesquisas que tentam caracterizar procariotos que metabolizam e/ou produzem xenobióticos (MISHRA, 2021).

Fármacos, enquanto xenobióticos, podem sofrer metabolismo microbiano no MIH e isso segue sendo investigado (WILSON, 2017).

As bactérias do MIH podem metabolizar xenobióticos no lúmen do TGI (oriundos da ingestão ou da via biliar), em processos como redução, hidrólise, remoção de um grupamento succinato, desidroxilação, acetilação, desacetilação, proteólise, desnitração, deglicosilação, desconjugação, desmetilação, dentre outros (CLAUS, 2016). Diferentes xenobióticos podem ser ativados ou inativados por ação do MIH. E bactérias a exemplo dos *lactobacillus* podem evitar a absorção de xenobióticos tóxicos, como as micotoxinas produzidas por leveduras residentes no MIH (VINDEROLA, 2014). E o MIH também pode influenciar a atividade de enzimas de metabolismo de xenobióticos no próprio hospedeiro, regulando nos hepatócitos a expressão de receptores nucleares, a expressão de proteínas de oxidação e conjugação, e a expressão de diferentes transportadores (COLLINS, 2020).

O MIH também pode abrigar bactérias responsáveis por causarem reações de conjugação entre aminoácidos e o ácido cólico, dentre outros ácidos biliares, e recentemente novos conjugados foram encontrados (QUINN, 2020).



## 8 - REFERÊNCIAS

- ADOLPH, Timon E. et al. Liver–microbiome axis in health and disease. **Trends in immunology**, v. 39, n. 9, p. 712-723, 2018.
- ANDREWS, Walter S. et al. Fat soluble vitamin deficiency in biliary atresia. **Journal of Pediatric Surgery**, v. 16, n. 3, p. 284-290, 1981.
- ARAÚJO, João Ricardo et al. Impact of high-fat diet on the intestinal microbiota and small intestinal physiology before and after the onset of obesity. **Biochimie**, v. 141, p. 97-106, 2017.
- BISANZ, Jordan E. et al. Meta-analysis reveals reproducible gut microbiome alterations in response to a high-fat diet. **Cell host & microbe**, v. 26, n. 2, p. 265-272. e4, 2019.
- BORRELLI, Antonella et al. Role of gut microbiota and oxidative stress in the progression of non-alcoholic fatty liver disease to hepatocarcinoma: Current and innovative therapeutic approaches. **Redox biology**, v. 15, p. 467-479, 2018.
- BOSCH, Antonio; PENA, Luis R. The sphincter of oddi. **Digestive diseases and sciences**, v. 52, n. 5, p. 1211-1218, 2007.
- BRESLIN, Jerome W. Mechanical forces and lymphatic transport. **Microvascular research**, v. 96, p. 46-54, 2014.
- CASTAING, Denis. Surgical anatomy of the biliary tract. **Hpb**, v. 10, n. 2, p. 72-76, 2008.
- CABRERA-RUBIO, Raul et al. Cholestasis induced by bile duct ligation promotes changes in the intestinal microbiome in mice. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2019.
- CHAKRABORTY, Sanjukta et al. Lymphatic system acts as a vital link between metabolic syndrome and inflammation. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1207, n. Suppl 1, p. E94, 2010.
- CHIKLY, B. Who discovered the lymphatic system?. **Lymphology**, v. 30, n. 4, p. 186-193, 1997.
- CHOW, Janet; TANG, Haiqing; MAZMANIAN, Sarkis K. Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease. **Current opinion in immunology**, v. 23, n. 4, p. 473-480, 2011.
- CLAUS, Sandrine P.; GUILLOU, Hervé; ELLERO-SIMATOS, Sandrine. The gut microbiota: a major player in the toxicity of environmental pollutants?. **Npj biofilms and microbiomes**, v. 2, n. 1, p. 1-11, 2016.

- COLLINS, Stephanie L.; PATTERSON, Andrew D. The gut microbiome: an orchestrator of xenobiotic metabolism. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 10, n. 1, p. 19-32, 2020.
- CONNORS, Jessica et al. The relationship between fecal bile acids and microbiome community structure in pediatric Crohn's disease. **The ISME journal**, v. 14, n. 3, p. 702-713, 2020.
- D'ANGELO, E. A.; RANG, J. Ayurveda, A Ciência da Vida Longa. Madras; 1ª edição, 2008
- DABKE, Kruttika et al. The gut microbiome and metabolic syndrome. **The Journal of clinical investigation**, v. 129, n. 10, p. 4050-4057, 2019.
- DAWSON, Paul A. Bile formation and the enterohepatic circulation. **Physiology of the gastrointestinal tract**, p. 931-956, 2018.
- DE MELO, Rachel Tavares; CHARNESKI, Lisa; HILAS, Olga. Rifaximin for the treatment of hepatic encephalopathy. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 65, n. 9, p. 818-822, 2008.
- DUTCZAK, WILLIAM J.; CLARKSON, THOMAS W.; BALLATORI, NAZZARENO. Biliary-hepatic recycling of a xenobiotic: gallbladder absorption of methyl mercury. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 260, n. 6, p. G873-G880, 1991.
- ELLIOTT, William H.; HYDE, Paul M. Metabolic pathways of bile acid synthesis. **The American journal of medicine**, v. 51, n. 5, p. 568-579, 1971.
- EVANGELAKOS, Ioannis et al. Role of bile acids in inflammatory liver diseases. In: **Seminars in immunopathology**. Springer Berlin Heidelberg, 2021. p. 1-14.
- FORDTRAN, John S.; BUNCH, Francis; DAVIS, Glenn R. Ox Bile Treatment of Severe Steatorrhea in an Ileectomy—Ileostomy Patient. **Gastroenterology**, v. 82, n. 3, p. 564-568, 1982.
- FUNABASHI, Masanori et al. A metabolic pathway for bile acid dehydroxylation by the gut microbiome. **Nature**, v. 582, n. 7813, p. 566-570, 2020.
- GRIGOR'EVA, Irina N.; ROMANOVA, Tatyana I. Gallstone Disease and Microbiome. **Microorganisms**, v. 8, n. 6, p. 835, 2020.
- GRITZ, Emily C.; BHANDARI, Vineet. The human neonatal gut microbiome: a brief review. **Frontiers in pediatrics**, v. 3, p. 17, 2015.
- HADDAD, Nagib. **Metodologia de estudos em ciências da saúde**. Editora Roca, 2004.

HALL, John E. **Guyton y Hall**. Elsevier Health Sciences Spain, 2011.

HAN, Thang S.; LEAN, Michael EJ. Metabolic syndrome. **Medicine**, v. 43, n. 2, p. 80-87, 2015.

HARTSTRA, A. V.; NIEUWDORP, M.; HERREMA, H. Interplay between gut microbiota, its metabolites and human metabolism: Dissecting cause from consequence. **Trends in Food Science & Technology**, v. 57, p. 233-243, 2016.

HEALEY, John E.; SCHROY, Paul C. Anatomy of the biliary ducts within the human liver: analysis of the prevailing pattern of branchings and the major variations of the biliary ducts. **AMA archives of surgery**, v. 66, n. 5, p. 599-616, 1953.

HINTZ, H. F. Digestive physiology of the horse. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 46, n. 1, p. 13-17, 1975.

ISHIMOTO, Takuji et al. High-fat and high-sucrose (western) diet induces steatohepatitis that is dependent on fructokinase. **Hepatology**, v. 58, n. 5, p. 1632-1643, 2013.

ISLAM, KBM Saiful et al. Bile acid is a host factor that regulates the composition of the cecal microbiota in rats. **Gastroenterology**, v. 141, n. 5, p. 1773-1781, 2011.

JACOBS, Jonathan P. et al. Microbiome and bile acid profiles in duodenal aspirates from patients with liver cirrhosis: The Microbiome, Microbial Markers and Liver Disease Study. **Hepatology Research**, v. 48, n. 13, p. 1108-1117, 2018.

JIA, Baolei et al. Diet-Related Alterations of Gut Bile Salt Hydrolases Determined Using a Metagenomic Analysis of the Human Microbiome. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 7, p. 3652, 2021.

JOHNSON, Leonard R. **Gastrointestinal Physiology: Mosby Physiology Monograph Series (With STUDENT CONSULT Online Access)**. Elsevier Health Sciences, 2013.

JONES, Mark W.; HANNOODEE, Sally; YOUNG, Michael. Anatomy, abdomen and pelvis, gallbladder. **StatPearls [Internet]**, 2020.

KAMADA, Nobuhiko et al. Control of pathogens and pathobionts by the gut microbiota. **Nature immunology**, v. 14, n. 7, p. 685-690, 2013.

KLAASSEN, Curtis D.; PLAA, Gabriel L. Biliary excretion of xenobiotics. **CRC critical reviews in toxicology**, v. 4, n. 1, p. 1-29, 1975.

KOGUT, Michael H. The effect of microbiome modulation on the intestinal health of poultry. **Animal feed science and technology**, v. 250, p. 32-40, 2019.

KOŁODZIEJCZYK, Aleksandra A.; ZHENG, Danping; ELINAV, Eran. Diet–microbiota interactions and personalized nutrition. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 12, p. 742-753, 2019.

KUIPERS, Folkert; DE BOER, Jan Freark; STAELS, Bart. Microbiome modulation of the host adaptive immunity through bile acid modification. **Cell metabolism**, v. 31, n. 3, p. 445-447, 2020.

LAASS, Martin W.; ROGGENBUCK, Dirk; CONRAD, Karsten. Diagnosis and classification of Crohn's disease. **Autoimmunity reviews**, v. 13, n. 4-5, p. 467-471, 2014.

LI, Meng et al. Gut Microbiota Dysbiosis Associated with Bile Acid Metabolism in Neonatal Cholestasis Disease. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2020.

LI, Rumei et al. Gut microbiome and bile acids in obesity-related diseases. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, p. 101493, 2021.

LIPSCHUTZ, Emanuel W.; FEDER, Isidore A. Studies on the cholagogue and choloretic effects of bile acids as compared with oleic acid. **The American Journal of Digestive Diseases**, v. 8, n. 5, p. 173-176, 1941.

LONGO, Valter D. Programmed longevity, youthspan, and juvenology. **Aging Cell**, v. 18, n. 1, p. e12843, 2019.

MA, Chi et al. Gut microbiome–mediated bile acid metabolism regulates liver cancer via NKT cells. **Science**, v. 360, n. 6391, 2018.

MANSBACH 2ND, C. M.; ARNOLD, A.; COX, M. A. Factors influencing triacylglycerol delivery into mesenteric lymph. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 249, n. 5, p. G642-G648, 1985.

MILLBURN, Peter. Excretion of xenobiotic compounds in bile. In: **The Hepatobiliary System**. Springer, Boston, MA, 1976. p. 109-134.

MISHRA, Sandhya et al. Recent advanced technologies for the characterization of xenobiotic-degrading microorganisms and microbial communities. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 31, 2021.

NAKAGAWA, Shoichi et al. Dissolution of cholesterol gallstones by ursodeoxycholic acid. **The Lancet**, v. 310, n. 8034, p. 367-369, 1977.

NICHENAMETLA, Sailendra N. et al. Differential effects of sulfur amino acid-restricted and low-calorie diets on gut microbiome profile and bile acid composition in male C57BL/6/J mice. **The Journals of Gerontology: Series A**, 2020.

NIEUWDORP, Max et al. Role of the microbiome in energy regulation and metabolism. **Gastroenterology**, v. 146, n. 6, p. 1525-1533, 2014.

NORONHA, Alberto et al. The Virtual Metabolic Human database: integrating human and gut microbiome metabolism with nutrition and disease. **Nucleic acids research**, v. 47, n. D1, p. D614-D624, 2019.

POPPER, Hans; SCHAFFNER, Fenton. Pathophysiology of cholestasis. **Human pathology**, v. 1, n. 1, p. 1-24, 1970.

PUGIN, Benoit et al. A wide diversity of bacteria from the human gut produces and degrades biogenic amines. **Microbial ecology in health and disease**, v. 28, n. 1, p. 1353881, 2017.

PULENDRAN, Bali et al. Lipopolysaccharides from distinct pathogens induce different classes of immune responses in vivo. **The Journal of Immunology**, v. 167, n. 9, p. 5067-5076, 2001.

QIN, Junjie et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. **nature**, v. 464, n. 7285, p. 59-65, 2010.

QUINN, Robert A. et al. Global chemical effects of the microbiome include new bile-acid conjugations. **Nature**, v. 579, n. 7797, p. 123-129, 2020.

REYNOLDS JR, Walker. The first laparoscopic cholecystectomy. **JSLs: Journal of the Society of Laparoendoscopic Surgeons**, v. 5, n. 1, p. 89, 2001.

REZENDE, JM. À sombra do plátano: crônicas de história da medicina [online]. São Paulo: Editora Unifesp, 2009. Dos quatro humores às quatro bases. pp. 49-53. ISBN 978-85-61673-63-5. Available from SciELO Books

RIDAURA, Vanessa K. et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. **Science**, v. 341, n. 6150, 2013.

ROHR, Michael W. et al. Negative effects of a high-fat diet on intestinal permeability: a review. **Advances in Nutrition**, v. 11, n. 1, p. 77-91, 2020.

SALAZAR, Juan et al. Microbiota and diabetes mellitus: role of lipid mediators. **Nutrients**, v. 12, n. 10, p. 3039, 2020.

- SHAO, Jun-Wei et al. Role of bile acids in liver diseases mediated by the gut microbiome. **World Journal of Gastroenterology**, v. 27, n. 22, p. 3010, 2021.
- STELLWAG, E. J.; HYLEMON, P. B. 7 $\alpha$ -Dehydroxylation of cholic acid and chenodeoxycholic acid by *Clostridium leptum*. **Journal of lipid research**, v. 20, n. 3, p. 325-333, 1979.
- SUCKLING, Keith E. et al. Cholesterol lowering and bile acid excretion in the hamster with cholestyramine treatment. **Atherosclerosis**, v. 89, n. 2-3, p. 183-190, 1991.
- SUDO, Nobuyuki. Biogenic amines: signals between commensal microbiota and gut physiology. **Frontiers in endocrinology**, v. 10, p. 504, 2019.
- SUTTON, J. D. Digestion and absorption of energy substrates in the lactating cow. *Journal of Dairy Science*, v. 68, n. 12, p. 3376-3393, 1985.
- TABIBIAN, James H. et al. Absence of the intestinal microbiota exacerbates hepatobiliary disease in a murine model of primary sclerosing cholangitis. **Hepatology**, v. 63, n. 1, p. 185-196, 2016.
- TICHO, Alexander L. et al. Bile acid receptors and gastrointestinal functions. **Liver research**, v. 3, n. 1, p. 31-39, 2019.
- TSIAOUSSIS, John et al. Effects of single and combined toxic exposures on the gut microbiome: current knowledge and future directions. **Toxicology letters**, v. 312, p. 72-97, 2019.
- VATANEN, Tommi et al. Variation in microbiome LPS immunogenicity contributes to autoimmunity in humans. **Cell**, v. 165, n. 4, p. 842-853, 2016.
- VINDEROLA, Celso Gabriel; RITIENI, Alberto. Role of probiotics against mycotoxins and their deleterious effects. 2014.
- VISCONTI, Alessia et al. Interplay between the human gut microbiome and host metabolism. **Nature communications**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2019.
- WAMPACH, Linda et al. Birth mode is associated with earliest strain-conferred gut microbiome functions and immunostimulatory potential. **Nature communications**, v. 9, n. 1, p. 1-14, 2018.
- WANG, Hongcai; ZHU, Bing (Ed.). Basic theories of traditional Chinese medicine. Singing Dragon, 2011
- WILSON, Ian D.; NICHOLSON, Jeremy K. Gut microbiome interactions with drug metabolism, efficacy, and toxicity. **Translational Research**, v. 179, p. 204-222, 2017.

WÓJCIK, Wojciech; ŁUKASIEWICZ, Monika; PUPPEL, Kamila. Biogenic amines: formation, action and toxicity—a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, n. 7, p. 2634-2640, 2021.

WU, Liwei et al. The gut microbiome-bile acid axis in hepatocarcinogenesis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 133, p. 111036, 2021.

YANG, Xinning et al. Prediction of biliary excretion in rats and humans using molecular weight and quantitative structure–pharmacokinetic relationships. **The AAPS journal**, v. 11, n. 3, p. 511-525, 2009.

ZENTEK, J.; FREICHE V.; Physiology of the Gastrointestinal Tract. Encyclopedia of Feline Clinical Nutrition. Updated: APR 01, 2009. Disponível em <https://www.ivis.org/library/encyclopedia-of-feline-clinical-nutrition/physiology-of-gastrointestinal-tract>

ZIERER, Jonas et al. The fecal metabolome as a functional readout of the gut microbiome. **Nature genetics**, v. 50, n. 6, p. 790-795, 2018.

ZHENG, Xiaojiao et al. Bile acid is a significant host factor shaping the gut microbiome of diet-induced obese mice. **BMC biology**, v. 15, n. 1, p. 1-15, 2017.