

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

Bruno Pinheiro Milnitsky

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA INTESTINAL SOBRE A SAÚDE  
HUMANA: CORRELAÇÕES ENTRE MICRORGANISMOS SIMBIONTES E  
DOENÇAS HUMANAS**

Porto Alegre

2021

Bruno Pinheiro Milnitsky

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA INTESTINAL SOBRE A SAÚDE  
HUMANA: CORRELAÇÕES ENTRE MICRORGANISMOS SIMBIONTES E  
DOENÇAS HUMANAS**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Professora Gertrudes Corção

Porto Alegre  
2021

## Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

### CIP - Catalogação na Publicação

Milnitsky, Bruno Pinheiro

Análise da influência da microbiota intestinal sobre a saúde humana: correlações entre microrganismos simbiotes e doenças humanas / Bruno Pinheiro Milnitsky. -- 2021.

42 f.

Orientadora: Gertrudes Corção.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Curso de Biomedicina, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Microbiota. 2. Sistema imune. 3. Sistema digestório. 4. Sistema nervoso. 5. Metabolismo. I. Corção, Gertrudes, orient. II. Título.

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

Bruno Pinheiro Milnitsky

**Análise da influência da microbiota intestinal sobre a saúde humana: correlações entre microrganismos simbiotes e doenças humanas**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovado em: 26 de Abril de 2021.

BANCA EXAMINADORA

---

Tiago Veit – ICBS/UFRGS

---

Denise Zancan –ICBS/UFRGS

---

Gertrudes Corção – ICBS/UFRGS

## RESUMO

Este trabalho teve como objetivo a revisão de material acadêmico relativo à influência da microbiota intestinal sobre a saúde humana, a fim de consultar os conhecimentos atuais a respeito de como a microbiota pode afetar o desenvolvimento de certas doenças. Os estudos encontrados foram divididos em 4 grupos, relacionados a seu conteúdo: Sistema nervoso Central; Sistema Imune; Metabolismo e Outros sistemas do organismo humano afetados pela microbiota. A partir da leitura dos artigos selecionados, foi possível encontrar diversas evidências demonstrando a influência que a microbiota intestinal tem no organismo humano, e como estes mecanismos que a microbiota utiliza para se comunicar com seu hospedeiro podem alterar a saúde humana. No entanto, ainda há muito a ser investigado em relação à influência da microbiota intestinal em doenças que afligem o ser humano, não só para confirmar as teorias e hipóteses que temos hoje, mas também para identificar novos mecanismos de influência microbiana e, potencialmente, desenvolver novos tratamentos que envolvam a manipulação da microbiota intestinal.

Palavras-chave: Microbiota. Sistema imune. Sistema digestório. Sistema nervoso. Metabolismo.

## **ABSTRACT**

The main objective of this study was to gather as much academic material as possible regarding the influence of the gut microbiota over human health, in order to consult current knowledge regarding how the microbiota can affect the onset and development of certain diseases. The selected articles were divided into 4 groups, related to their contents: Central Nervous System; Immune system; Metabolism and Other systems in the human organism. From these articles, a great quantity of evidence demonstrating the influence that the gut microbiota has over the human organism was found and how the mechanisms which the microbiota utilizes to communicate with its host can alter human health. However, further investigation of the influence of the gut microbiota over diseases that affect mankind is still needed, as to not only confirm theories and hypothesis we have today, but also to identify new, unknown mechanisms of microbial influence and potentially develop new treatments that involve manipulating the gut microbiota.

Keywords: Microbiota. Immune system. Digestive system. Nervous system. Metabolism.

## LISTA DE FIGURAS

Figura I – Possíveis causas da neuroinflamação.....	12
Figura II – Influência da microbiota sobre a patologia da doença de Alzheimer.....	14
Figura III – Possíveis vias de influência da microbiota sobre o autismo.....	16
Figura IV – Possível ação da Metformina sobre a microbiota intestinal.....	20
Figura V – Vias de influência microbiana sobre o desenvolvimento de NAFLD.....	23
Figura VI – Rota de síntese do TMAO e seus efeitos no organismo.....	25

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

- BDNF – Brain-derived neurotrophic factor (Fator neurotrófico derivado do cérebro)
- GABA – Gamma-Amino butyric acid (Ácido gama-aminobutírico)
- GF – Germ Free (Ausência de Microbiota)
- HLA – Human leucocyte antigen (Antígeno Leucocitário Humano)
- IBD – Inflammatory bowel disease (doenças inflamatórias do colón)
- IBS – Irritable bowel syndrome (Síndrome do colón irritável)
- LPS – Lipopolysaccharide (Lipopolissacarídeo)
- NAFLD – Non-alcoholic fatty liver diseases (Doenças hepáticas gordurosas não alcoólicas)
- SNC – Sistema nervoso central
- SCFA – Short Chain Fatty Acid (Ácido graxo de cadeia curta)
- TMAO – Trimethylamine N-oxide (N-óxido de trimetilamina)

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO COMPREENSIVA .....</b>	<b>10</b>
1.1	JUSTIFICATIVA .....	11
1.2	OBJETIVOS .....	9
1.2.1	Objetivo geral.....	9
1.2.2	Objetivos específicos.....	9
<b>2</b>	<b>ARTIGO CIENTÍFICO.....</b>	<b>10</b>
<b>3</b>	<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>29</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>31</b>
	<b>ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA HUMAN MICROBIOME JOURNAL.....</b>	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO COMPREENSIVA

A microbiota intestinal humana consiste em bactérias, arqueias e fungos que habitam o trato gastrointestinal do ser humano, contendo a maior população e número de espécies diferentes quando comparado a outras partes do corpo humano. Anteriormente considerada apenas comensal, estudos recentes revelaram que os microrganismos que habitam o trato gastrointestinal humano não só são simbioses, mas também possuem grande importância para a saúde humana.

O conhecimento a respeito da microbiota humana teve início no ano de 1886 quando o pediatra Austríaco Theodor Escherich observou a presença da bactéria *Escherichia coli* no intestino de crianças saudáveis e acometidas por diarreia, juntamente com uma monografia detalhando a relação entre a bactéria e o funcionamento do sistema digestório infantil. Nos anos seguintes, diversas outras espécies de bactérias habitando o intestino humano foram descobertas, mas estudos detalhando o papel dessa microbiota e sua relação com o ser humano somente começaram a surgir no começo do século 21.

Anteriormente, acreditava-se que o ser humano nascesse com uma total ausência de microbiota, que seria adquirida ao longo dos primeiros anos de vida, mas novos estudos demonstraram que há um contato com microrganismos muito mais cedo do que se imaginava, dentro do útero durante a gestação. Em um estudo que analisou a placa basal de placentas provenientes de um hospital terciário observou-se que cerca de um terço (27%) das placentas analisadas tinham a presença intracelular de bactérias. A ausência de infecções e/ou complicações na gravidez ou parto sugeriu que esta presença bacteriana poderia ser a fonte da futura microbiota do feto (STOUT et al., 2013). Adicionalmente, outro estudo (AAGAARD et al., 2014) realizou uma análise de amostras placentárias e encontrou a presença de diversos microrganismos, novamente sem a presença de infecções nocivas. Enquanto ainda são necessários futuros estudos para investigar mais detalhadamente esta presença de microrganismos na placenta, é possível que esses microrganismos presentes na placenta sejam os primeiros colonizadores da microbiota do feto.

Adicionalmente, a recente descoberta do eixo intestino-cérebro (uma íntima conexão entre o sistema nervoso central e o sistema digestório através de sinalizações neuro-humorais) abriu novas possibilidades para a comprovação da influência da microbiota ao descrever uma possível via para a ação da microbiota sobre o sistema nervoso central. Esta conexão é possível através do sistema nervoso entérico, uma subdivisão do sistema nervoso constituída por uma rede de neurônios que controlam o sistema digestório e opera de forma independente do sistema

nervoso central. A possível importância da microbiota no desenvolvimento e função do sistema nervoso entérico (OBATA; PACHNIS, 2016) providencia ainda mais provas para a sua influência sobre o sistema nervoso central.

A microbiota, considerada participante deste eixo devido à sua influência sobre o trato gastrointestinal, se comunica com o sistema nervoso central através da produção de diversas substâncias que afetam órgãos e sistemas além do digestivo (CLARKE et al., 2014). A microbiota também é capaz de modular o desenvolvimento e funcionamento do sistema imune. Estas vias de influência serão mais precisamente detalhadas no artigo científico.

## **1.1 JUSTIFICATIVA**

Os conhecimentos atuais a respeito da microbiota humana são limitados, devido ao carácter novel desta área; no entanto, os resultados obtidos através de pesquisas recentes se demonstraram promissores, provando a conexão entre a microbiota intestinal e a saúde humana.

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 Objetivo geral**

Reunir uma coletânea de artigos publicados a respeito da influência da microbiota intestinal sobre a saúde humana a fim de escrever uma revisão bibliográfica sobre o assunto para possibilitar uma atuação futura em possíveis estudos e pesquisas em uma área que se demonstra promissora.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

- a) Realizar diversas pesquisas em diferentes bases de dados online na procura de artigos que explorem a possível relação entre a microbiota intestinal e a saúde humana, subdividindo-os em subgrupos referentes às principais áreas do corpo humano afetados pela microbiota intestinal (sistema nervoso central, sistema imune, metabolismo e outros sistemas do organismo humano afetados pela microbiota).
- b) Reunir artigos a respeito do assunto a fim de extrair seus conteúdos
- c) Aprofundar o conhecimento a respeito da influência da microbiota intestinal sobre a saúde humana com base em dados atuais.

## 2 ARTIGO CIENTÍFICO

### **Análise da influência da microbiota intestinal sobre a saúde humana: correlações entre microrganismos simbiotes e doenças humanas**

**AUTORES:** Bruno Pinheiro Milnitsky, Gertrudes Corção.

**FILIAÇÃO:** Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**PALAVRAS-CHAVE:** Microbiota, Sistema Nervoso, Sistema Imune, Sistema digestório, Metabolismo

#### **ABSTRACT:**

Este trabalho teve como objetivo a revisão de material acadêmico relativo à influência da microbiota intestinal sobre a saúde humana, a fim de consultar os conhecimentos atuais a respeito de como a microbiota pode afetar o desenvolvimento de certas doenças. Os estudos encontrados foram divididos em 4 grupos, relacionados a seu conteúdo: sistema nervoso central; sistema imune; metabolismo e outros sistemas do organismo humano afetados pela microbiota. A partir da leitura dos artigos selecionados, foi possível encontrar diversas evidências demonstrando a influência que a microbiota intestinal tem no organismo humano, e como estes mecanismos que a microbiota utiliza para se comunicar com seu hospedeiro podem alterar a saúde humana. No entanto, ainda há muito a ser investigado em relação à influência da microbiota intestinal em doenças que afligem o ser humano, não só para confirmar as teorias e hipóteses que temos hoje, mas também para identificar novos mecanismos de influência microbiana e, potencialmente, desenvolver novos tratamentos que envolvam a manipulação da microbiota intestinal.

### **2.1 Introdução**

Foi realizada uma extensa pesquisa por artigos relacionados a conexões entre a microbiota e a saúde humana nos sites PUBMED e portal CAPES, primeiramente com os termos “GUT MICROBIOTA”, gerando 80 resultados. Em seguida, foram realizadas novas buscas, adicionando outros termos para obter resultados mais específicos, como “IMMUNE SYSTEM”, “METABOLISM”, “DEPRESSION”, “AUTISM” entre outros, aumentando o número de artigos para 100. Todos os artigos foram brevemente lidos a fim de excluir aqueles que não possuísem informações relevantes, diminuindo o número de artigos para 19.

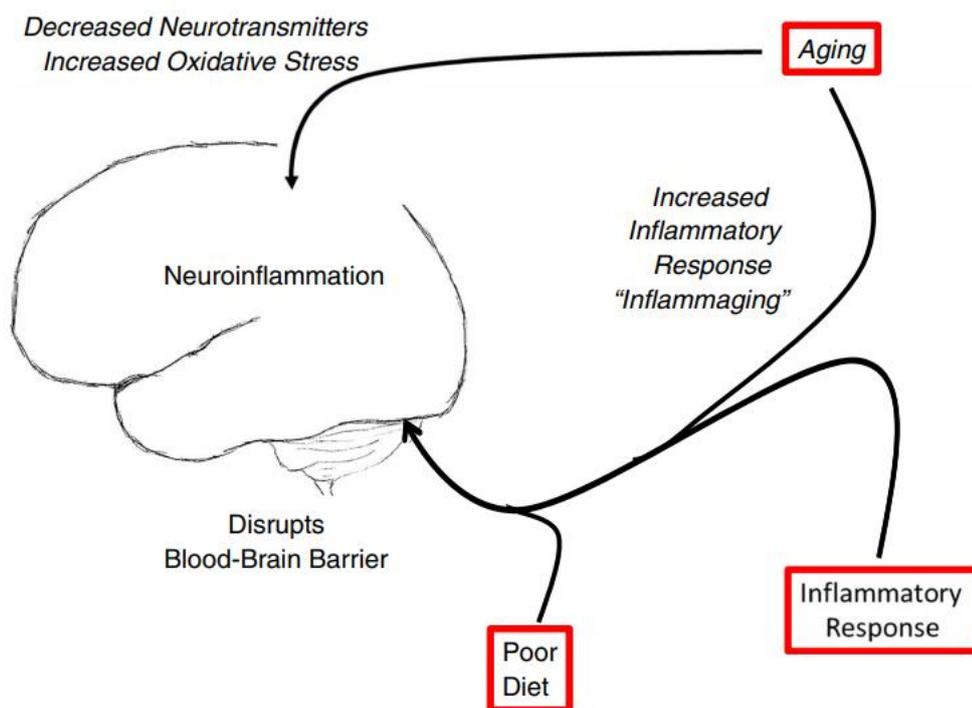
Considerando que uma parcela destes 19 artigos eram revisões bibliográficas que providenciaram referências adicionais, o número total final de artigos foi de 95. Os artigos foram então divididos em 4 grupos, de acordo com qual sistema do organismo humano era mencionado pelo artigo: sistema nervoso central, sistema imune, metabolismo e outros sistemas do organismo humano afetados pela microbiota.

## 2.2 Sistema nervoso central

A princípio, era difícil imaginar que a microbiota intestinal pudesse ter qualquer tipo de influência sobre o sistema nervoso central. Todavia, certas descobertas a respeito do organismo humano providenciaram possíveis meios de comunicação e ação entre os dois sistemas: através do eixo cérebro-intestino e pela manipulação do sistema imune e inflamações, atraindo a atenção de pesquisadores.

hematoencefálica [64]. Alguns exemplos de SCFAs são o ácido butírico, ácido acético, ácido propiônico, ácido lático e ácido isovalérico. Estes SCFAs, principalmente o ácido butírico, têm um importante papel na manutenção da permeabilidade normal do intestino, demonstrado por seu potencial como tratamento para doenças causadas por permeabilidade anormalmente alta do intestino [95].

Uma das maneiras pelas quais a microbiota pode afetar o sistema nervoso central (SNC) é pela produção de metabólitos neurotransmissores ou neuromoduladores [51], como o ácido gama-aminobutírico (GABA), fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) e serotonina [26]. Adicionalmente, os ácidos graxos de cadeia curta (SCFA) são outra via de influência; certas bactérias são capazes de produzir estas substâncias, que conseguem atravessar a barreira. Disfunções na permeabilidade intestinal geralmente levam ao desenvolvimento de inflamações devido ao “vazamento” de bactérias e metabólitos associados, como lipopolissacarídeos (LPS), e a ativação inflamatória pode induzir neuroinflamações [71], potencialmente alterando a função e morfologia cerebral (Figura I).



**Figura 1** – Possíveis causas da neuroinflamação. Fonte: Quigley [70] – Um diagrama detalhando os possíveis fatores que induzem a ocorrência de neuroinflamação.

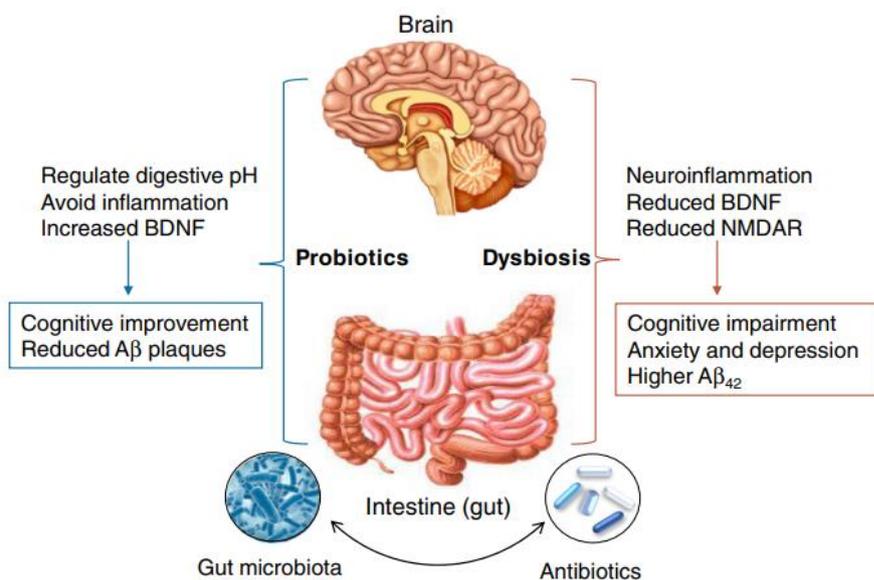
Doenças neurodegenerativas, como a Doença de Parkinson e a Doença de Alzheimer, foram um dos alvos de estudo. Ambas envolvem a progressiva perda de neurônios e sua função, e a causa por trás do desenvolvimento destas doenças ainda não é bem compreendida. Apesar disto, acredita-se que a doença de Alzheimer ocorra devido ao acúmulo de placas de amiloide e emaranhados neurofibrilares, e que o

Parkinson ocorra devido ao acúmulo de proteínas mal enoveladas em corpos de Lewy. Como mencionado acima, o sistema nervoso entérico é potencialmente dependente da microbiota intestinal para o seu desenvolvimento e funcionamento. Quigley [70] sugere que devido a semelhanças morfológicas, fisiológicas e farmacológicas entre o sistema nervoso central e o sistema nervoso entérico, a microbiota seja

capaz de influenciar o SNC de maneira semelhante à que influencia o sistema nervoso entérico.

Uma possível correlação da microbiota com o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas é demonstrada pela modificação da microbiota intestinal com a idade. O envelhecimento altera a composição da microbiota [60], potencialmente levando à disbiose e a potenciais reações inflamatórias e imunes. Esta potencial disbiose relacionada à idade pode estar ligada à maior ocorrência da doença de Alzheimer em pessoas idosas. Pacientes com Parkinson apresentam modificações na sua microbiota intestinal; em comparação com controles saudáveis, os pacientes apresentaram populações maiores de bactérias pró-inflamatórias, como *Proteobacteria*, *Enterococcaceae* e *Enterobacteriaceae*, e populações menores de bactérias com potencial anti-inflamatório, como bactérias *Blautia*, *Coprococcus*, *Roseburia* e *Fecalibacterium* [42, 77, 33]. O mesmo pode ser observado em pacientes com Alzheimer, que demonstraram populações menores de *Eubacterium rectale* anti-inflamatórias, e populações maiores de bactérias *Escherichia* e *Shigella*, pró-inflamatórias [18].

Adicionalmente, é possível que a microbiota induza o acúmulo e deposição de placas amiloides na doença de Alzheimer; testes *in vitro* mostraram que metabólitos bacterianos, como LPS, podem causar a formação de placas amiloides [5]. Esta teoria é apoiada por experimentos realizados em camundongos geneticamente modificados para carregarem a proteína precursora de amiloide-beta. Camundongos *germ-free* (GF) apresentaram menor deposição de amiloide, mas a deposição aumentou quando os camundongos receberam uma recolonização microbiana do intestino, indicando que a microbiota tem um papel na deposição de amiloide [32]. No entanto, alguns estudos sugerem que o amiloide-beta é um peptídeo antimicrobiano, que naturalmente é produzido em resposta a inflamações [84] e que seu acúmulo ocorre devido à prolongadas reações inflamatórias [56]. Considerando o potencial inflamatório da microbiota, é possível que inflamações causadas por disbioses possam ser responsáveis pelas placas de amiloides que se acumulam no cérebro de pacientes com a doença de Alzheimer (Figura II).



**Figura 2** – Influência da microbiota sobre a patologia da doença de Alzheimer Fonte: Angelucci [4] – Figura demonstrando o efeito que a microbiota pode ter sobre a neuroinflamação e a deposição de placas amiloides.

Curiosamente, é sugerido que o consumo de café possa reduzir a chance do desenvolvimento da doença de Alzheimer. Acredita-se que esta proteção conferida pelo café seja majoritariamente devida à presença de polifenóis antioxidantes que previnem a morte de neurônios, mas recentemente foi sugerido

que a microbiota pode estar relacionada com esta proteção conferida pelo café. Primeiramente, o café pode servir como um prebiótico para a microbiota, auxiliando no crescimento de bactérias benígnas [37], e a microbiota pode ser vital para a absorção dos polifenóis antioxidantes, através da sua degradação

em componentes menores que são absorvidos pelo organismo humano com maior facilidade [55].

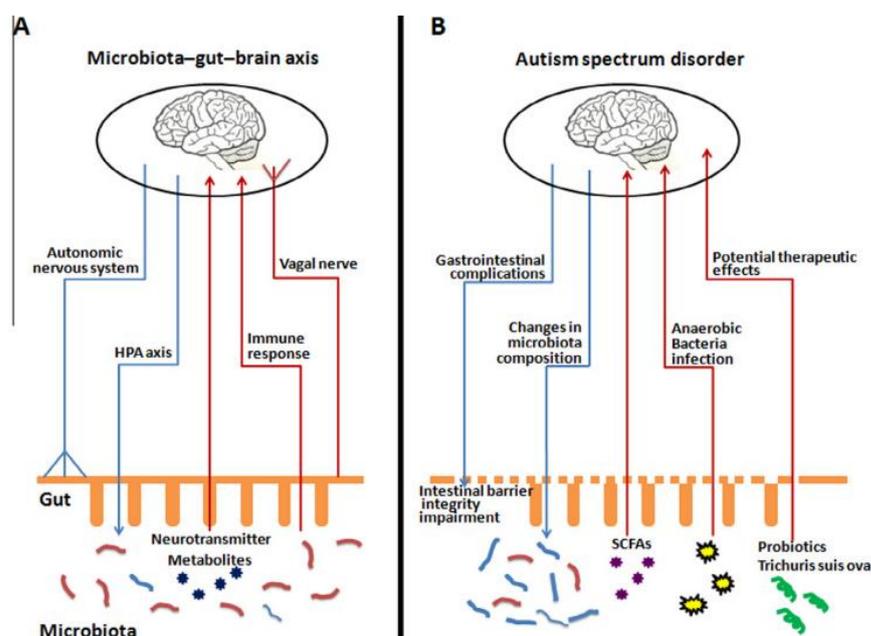
Outras doenças potencialmente influenciadas pela microbiota são os transtornos emocionais, como a depressão e ansiedade. As exatas causas e mecanismos destes distúrbios ainda não são compreendidos com exatidão, e o fato de que 30% dos indivíduos com depressão não respondem ao tratamento com antidepressivos monoaminérgicos [8] sugere que há outros fatores desconhecidos que afetam o desenvolvimento e a progressão de distúrbios emocionais. Pacientes com depressão apresentam menores populações das bactérias *Veillonellaceae*, *Prevotellaceae* e *Sutterellaceae*, e maiores populações de *Actinomycetaceae*

Uma das principais correlações da microbiota com transtornos emocionais é observada com bactérias capazes de produzir neurotransmissores e neuropeptídeos, como GABA, BDNF e serotonina [74]. Alterações nas populações de bactérias produtoras destes metabolitos que tem ação sobre o SNC levaria à um déficit de neurotransmissores e neuromoduladores, afetando a neurotransmissão. Adicionalmente a inflamação prolongada (potencialmente causada por uma disbiose intestinal) pode afetar o funcionamento do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal [53].

Considerando o potencial papel que as inflamações provenientes do intestino devidas a disbioses têm sobre alterações no SNC, Simpson *et al.* [80] sugeriram uma correlação entre a síndrome do cólon irritável com depressão e ansiedade. Pacientes com a síndrome do cólon irritável geralmente apresentam um transtorno emocional comorbital, principalmente depressão e ansiedade [41]. Através de uma revisão bibliográfica, Simpson *et al.* [80] observaram que pacientes com síndrome do cólon irritável (IBS) e depressão/ansiedade comórbida possuíam uma modificação característica da microbiota, com menores populações da família

*Lachnospiraceae* e maiores populações do filo *Proteobacteria* e dos gêneros *Bacteroides* e *Prevotella* [66]. Contudo, ainda não se sabe se esta microbiota alterada é responsável pela comorbidade entre IBS e transtornos emocionais, ou se é apenas coincidente devido à presença de ambas enfermidades.

Por último, outra possível doença influenciada pela microbiota é o autismo, uma doença de desenvolvimento que envolve disfunções sociais e comunicativas. O principal fenômeno que sugere uma ligação entre a microbiota e autismo é a comorbidade de doenças gastrointestinais em pacientes com autismo; pacientes com autismo severo têm uma maior chance de também ter sintomas gastrointestinais severos, sugerindo que a disfunção gastrointestinal pode ter uma influência sobre o autismo [2]. Uma particularidade quanto à possível influência da microbiota sobre o autismo é a ação da bactéria *Clostridium tetani*, que produz a toxina tetânica e causa o tétano, doença caracterizada por intensos espasmos musculares devido à esta toxina. Enquanto que o tétano geralmente ocorre devido a ferimentos com objetos contaminados, é possível que alterações na microbiota intestinal, principalmente disbioses causadas pelo uso de antibióticos orais, possibilitem a colonização do intestino por bactérias nocivas, como a *C. tetani*. O nervo vago liga o sistema digestório ao SNC, providenciando uma via por onde metabólitos microbianos podem atravessar, possibilitando o transporte de toxina tetânica para o cérebro, onde ela alteraria o funcionamento de neurotransmissores e causaria mudanças de comportamento semelhantes à autismo [11]. Esta ação da toxina tetânica é também evidenciada pela apresentação de comportamentos estereotípicos de autismo em animais laboratoriais que receberam injeções de baixas doses da toxina diretamente no cérebro [28, 36].



**Figura 3** – Possíveis vias de influência da microbiota sobre o autismo

Fonte: Li (2016, p. 6) – Figura detalhando as vias de influência que a microbiota potencialmente utiliza, e como a microbiota pode influenciar o desenvolvimento do autismo. (SCFA's = ácidos graxos de curta cadeia)

Em conclusão, há diversas conexões entre o intestino (e a microbiota que ali reside) e o SNC humano, providenciando diversos meios de influência que a microbiota intestinal pode exercer sobre o seu hospedeiro.

### 2.3 Sistema Imune

Curiosamente, a microbiota intestinal tem um amplo papel na defesa do organismo; ela não só dificulta a colonização do epitélio intestinal por patógenos nocivos, mas também auxilia no desenvolvimento e ação do sistema imune.

A mera presença da microbiota já providencia benefícios para o hospedeiro: as bactérias simbiotes e comensais dificultam a colonização e crescimento de bactérias patogênicas, tanto diretamente quanto indiretamente. As bactérias presentes no intestino competem entre si pelos nutrientes presentes, e são capazes de metabolizar substâncias nocivas para eliminar bactérias adversárias [68] ou pela produção de substâncias bacteriostáticas [79].

A microbiota também está relacionada com o desenvolvimento e ativação do sistema imune. O ser humano recebe grande parte de sua futura microbiota através da mãe, proveniente do trato vaginal e da

amamentação, e adquire uma microbiota semelhante à de um adulto por volta do primeiro ou segundo ano de vida. Esta “doação” da microbiota é evidente pelas diferenças observadas na microbiota de crianças que nasceram via cesariana [9] ou que receberam fórmula infantil [87], e pela maior incidência de doenças relacionadas ao sistema imune nestas crianças, como o diabetes tipo 1 [17] ou a asma [35]. A presença da microbiota também é importante para o próprio desenvolvimento da mucosa intestinal, induzindo a proliferação de células caliciformes e o engrossamento da mucosa [78]. Adicionalmente, a microbiota induz o desenvolvimento de estruturas imunológicas no intestino, como as placas de Peyer e os linfonodos mesentéricos [75] e a diferenciação de células do sistema imune [61].

Levando isto em consideração, é possível que alterações na microbiota possam levar a disfunções no sistema imune e ao desenvolvimento de doenças autoimunes. Pessoas em países desenvolvidos têm maior acesso a higiene e antibióticos, potencialmente alterando a sua microbiota. Um exemplo de doenças autoimunes potencialmente afetadas pela microbiota é a doença celíaca, caracterizada por uma reação inflamatória à presença de glúten (ou mais especificadamente, gliadina, um dos componentes do glúten) no intestino, que impede o paciente de

consumir alimentos que contenham essa substância. Os pacientes com essa doença apresentam a expressão do antígeno leucocitário humano (HLA) DQ2 ou DQ8, que reagem à peptídeos derivados do glúten; estes antígenos estão presentes em cerca de 35% da população, mas somente 3% apresentam a doença celíaca [48], sugerindo que outros fatores contribuem para o desenvolvimento desta doença. De acordo com Chibbar e Dieleman [20] a microbiota pode influenciar a doença celíaca de diversas maneiras: algumas bactérias são capazes de modificar peptídeos e alterar sua imunogenicidade, como a *Pseudomonas aeruginosa*, que aumenta o potencial imunogênico do peptídeo 33-mer  $\alpha$ -2-gliadina (um dos peptídeos derivados do glúten). Contudo, algumas cepas de *Lactobacillus*, extraídas de indivíduos sem a doença celíaca, são capazes de reduzir o potencial imunogênico do peptídeo, mostrando que essa modulação da imunogenicidade de peptídeos derivados de glúten é dependente da espécie bacteriana [15]. A microbiota também participa na regulação do sistema imune, e alterações nas populações microbianas modificam o desenvolvimento de linfócitos, gerando subpopulações linfocitárias que atuam de maneira defeituosa. Pacientes com a doença celíaca geralmente apresentam células T CD4+ que reagem especificamente ao glúten e um aumento de interleucinas inflamatórias 15 [81].

Outro exemplo semelhante ao anterior são a doença de Crohn e a colite ulcerativa, ambas doenças inflamatórias do trato gastrointestinal, cuja causa ainda não é bem compreendida. Estas doenças propriamente fazem parte de um grupo denominado “Doenças inflamatórias do intestino”, ou *Inflammatory bowel diseases* em inglês. Estas doenças geralmente estão caracterizadas pela modificação na microbiota intestinal, principalmente a redução de populações de *F. prausnitzii*, *Blautia faecis*, *Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus torques*, e *Clostridium lavalense*; tais bactérias são responsáveis pela produção de SCFAs, que possuem uma ação anti-inflamatória [86], e, portanto, uma diminuição de seus números poderia levar ao desenvolvimento de inflamações. Pacientes com a doença de Crohn geralmente também apresentam um

aumento de bactérias com o potencial pró-inflamatório, principalmente bactérias *Escherichia coli* que se aderem à mucosa. Os pacientes também apresentam maiores populações de bactérias redutoras de sulfato, que criam sulfeto de hidrogênio e causam danos na mucosa intestinal [50]. Curiosamente, há indícios de que um dos tratamentos utilizados para o tratamento de doenças inflamatórias do colón (IBD), a Mesalazina, tem efeitos sobre a microbiota. Este medicamento diminui a concentração de bactérias aderidas à mucosa [3], tem efeito bacteriostático sobre uma das principais bactérias relacionadas com a doença de Crohn, *Mycobacterium avium* [57] e reduz as populações de bactérias redutoras de sulfato [65].

A microbiota também é capaz de afetar o desempenho do sistema imune em outros órgãos além dos presentes no sistema digestório, como evidenciado na asma, outra doença imune que ocorre nos pulmões, levando à broncoespasmos, falta de ar e tosse. Como muitas das outras doenças envolvendo o sistema imune, os pacientes com asma apresentam uma modificação na microbiota quando comparados a indivíduos saudáveis, principalmente com a redução da população de bactérias simbióticas e o aumento de bactérias potencialmente patogênicas. Enquanto que fatores genéticos influenciam o aparecimento desta doença, a microbiota também influencia o desenvolvimento da asma, e a colonização de certas espécies pode preveni-lo [39]. Este efeito benéfico da microbiota sobre alergias foi observado em um experimento onde camundongos foram expostos à pó comumente encontrado em ambientes domésticos, levando à uma maior expressão de citocinas e células imunes e uma microbiota mais diversa [29]. O mesmo foi observado em um experimento semelhante, onde camundongos receberam inoculações orais de *Clostridium leptum*, causando uma proliferação de células T regulatórias e uma atenuação das reações inflamatórias nas vias aéreas [46].

De modo geral, os artigos descritos nesta seção demonstraram que a microbiota é indispensável para o desenvolvimento e funcionamento adequado do sistema imune, e que mudanças no seu equilíbrio

populacional podem afetar o organismo humano inteiro.

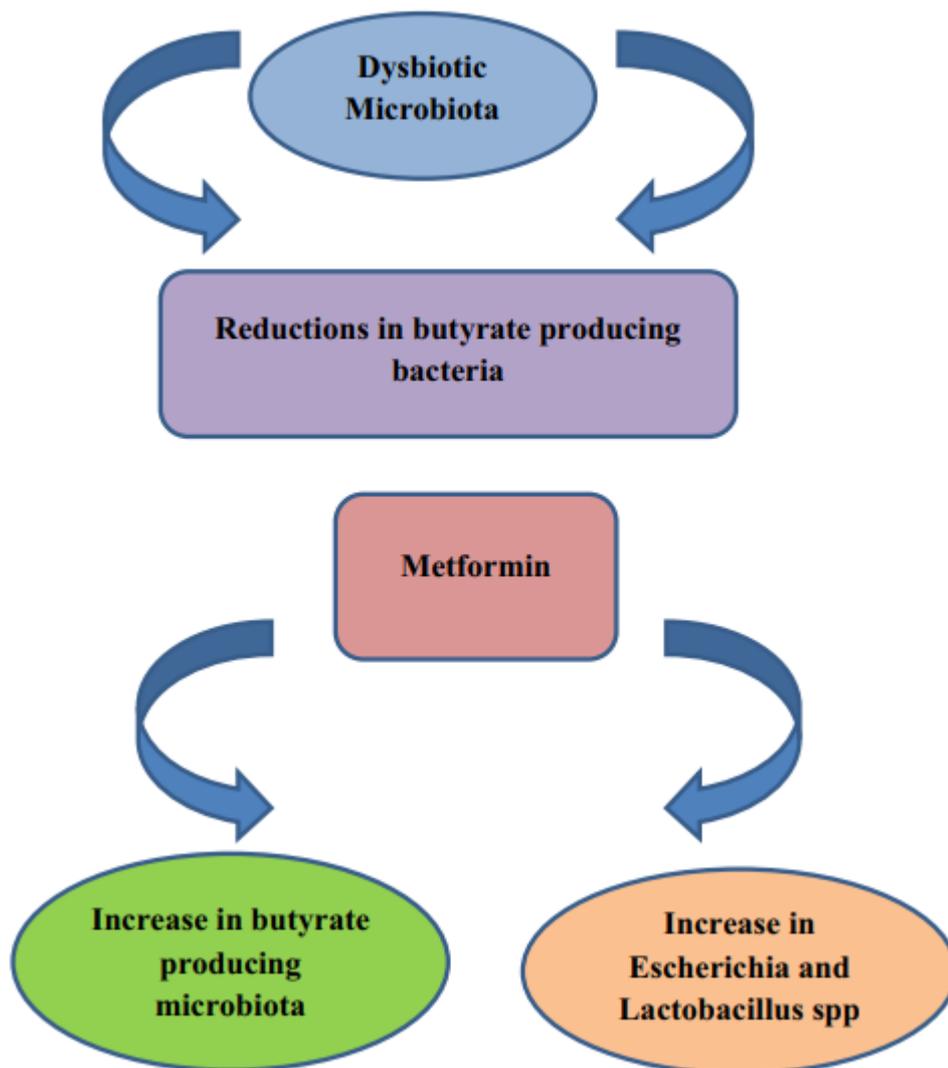
## 2.4 Metabolismo

Muitas das espécies encontradas na microbiota são essenciais para o metabolismo humano, sintetizando compostos essenciais (como a vitamina K, por exemplo) e processando carboidratos que o organismo humano não é capaz de digerir. No entanto, estudos recentes demonstraram que a microbiota também é capaz de induzir ou exacerbar o desenvolvimento de certos distúrbios metabólicos, como a Diabetes mellitus (tipo 1 e 2), obesidade e esteatose hepática. Essas enfermidades são correlacionadas devido a seu perfil metabólico, e geralmente pacientes obesos têm maior risco de desenvolver as outras duas doenças [31].

Diversos estudos demonstraram que a conexão entra a microbiota e o organismo humano é uma “via de mão dupla”, uma vez que a microbiota pode afetar o organismo do hospedeiro, e vice-versa. Eles confirmam que a dieta pode afetar a microbiota de camundongos [25] e seres humanos [92]. Levando isso em consideração, pesquisadores como Patterson [62] demonstraram interesse em investigar como a microbiota intestinal é impactada pela dieta ocidental, caracterizada por alto consumo de gordura e açúcar; esta dieta é uma das principais causas do desenvolvimento de diabetes tipo 2, obesidade e doença hepática gordurosa.

Primeiramente, pacientes com doenças metabólicas apresentam modificações na microbiota

intestinal. Essas modificações das populações bacterianas já são conhecidas, mas ainda são pouco entendidas. Indivíduos com diabetes tipo 2 possuem uma microbiota drasticamente alterada, possuindo maiores populações de bactérias do gênero *Lactobacillus* e menores populações de *Clostridium coccoides* e *Clostridium leptum* quando comparados à microbiota de indivíduos saudáveis. Foi também relatado uma notável diminuição das populações de *Clostridium* após 3 meses de tratamento contra diabetes [19]. Pacientes obesos apresentam um peculiar caso de modificação da proporção de dois dos principais filos da microbiota, *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, onde pacientes obesos apresentam um aumento de bactérias pertencentes ao filo *Bacteroidetes* [88]. No entanto, resultados de outros experimentos apresentaram valores diferentes, portanto a relação entre estes dois filos e a obesidade ainda não é bem estabelecido [62]. Na diabetes tipo 2, foi observado que a administração de metformina, remédio oral mais utilizado para esta doença, causa alterações na microbiota, aumentando as populações de *Akkermansia muciniphila* degradadora de mucina e bactérias produtoras de SCFAs [24]. Este efeito não aparenta ser apenas acidental, mas potencialmente pode auxiliar no tratamento da Diabetes tipo 2, uma vez que bactérias produtoras do SCFA ácido butírico podem melhorar a glicemia de pacientes [43]. Esta alteração da microbiota causada pela metformina pode ser o motivo da diminuição das populações de *Clostridium* observadas por Chen et al. [19], mencionado acima (Figura IV).



**Figura 4** – Possível ação da Metformina sobre a microbiota intestinal Fonte: Vallianou [90] – Um diagrama mostrando a influência que a metformina têm sobre a microbiota intestinal.

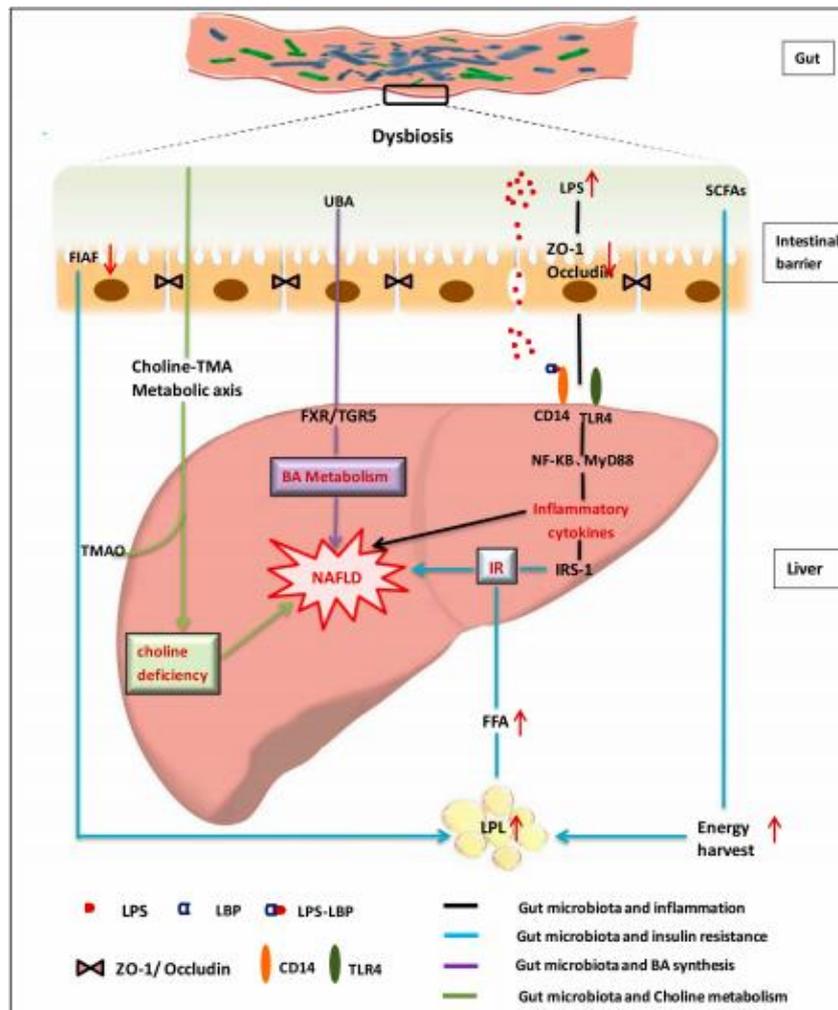
Uma das principais causas da obesidade é o consumo excessivo de alimentos, muitas vezes pouco saudáveis, e o sedentarismo. No entanto, é possível que certos casos de obesidade possam ser causados por ganho de peso induzido por certas bactérias, vulgarmente conhecidas como “bactérias obesas”. Espécies como a *Bacterioides thetaiotaomicron* são capazes de metabolizar polissacarídeos que o organismo humano não consegue digerir, criando SCFAs [83]. Esta transformação de polissacarídeos não-digestíveis providencia uma fonte de energia adicional para o hospedeiro, evidenciado pelo menor peso de ratos GF em comparação com camundongos normais [14] e o ganho de peso em camundongos que receberam um transplante fecal contendo “bactérias obesas” provenientes de camundongos

geneticamente obesos [89]. Adicionalmente, um estudo que utilizou “bactérias magras” (uma microbiota relacionada com peso normal) descobriu que estas bactérias têm influência sobre as “bactérias obesas”, uma vez que a presença de camundongos contendo “bactérias magras” na mesma gaiola que camundongos contendo “bactérias obesas” preveniu o desenvolvimento da obesidade neste último. Em outro experimento, as “bactérias obesas” tiveram dificuldade em colonizar ratos com uma dieta saudável consistindo de pouca gordura e bastantes fibras [73]. Estes resultados demonstram que apesar da influência que estas “bactérias obesas” impõem sobre organismo hospedeiro, é possível amenizar seus efeitos e controlá-las de maneira eficaz.

Um dos principais sintomas apresentados por pacientes obesos, além do acúmulo excessivo de gordura corporal, é uma tênue inflamação sistêmica. Patterson et al. [62] sugeriu que essa reação imune presente na obesidade pode estar relacionada com a microbiota intestinal, possivelmente exacerbando as reações inflamatórias já presentes, através de LPS, uma endotoxina encontrada em bactérias cuja presença ativa respostas imunes. Camundongos que receberam uma dieta com altos níveis de gordura apresentaram um grande aumento de níveis séricos de LPS e a injeção subcutânea de LPS em camundongos induziu a resistência à insulina e o ganho de peso [16]. A presença destes LPS no sangue pode ser causada por um aumento da permeabilidade da parede intestinal devido a alterações em proteínas de junção celular, um fenômeno denominado “intestino permeável”, que pode ocorrer devido a diversos motivos, geralmente associados com superpopulação bacteriana e interleucinas. Pacientes com esteatose hepática geralmente apresentam casos de superpopulação bacteriana, a expressão de receptores do tipo Toll 4 (TLR4) no fígado e liberação de interleucina 8, causando uma reação inflamatória [52], que é exacerbada pela presença de LPS no sangue. Interessantemente, um mecanismo semelhante é observado na diabetes mellitus tipo 1 e 2. Pacientes com a diabetes tipo 1 apresentam uma diminuição de cepas bacterianas produtoras de ácido butírico e um aumento da permeabilidade intestinal, sugerindo que a presença destas bactérias é importante para a manutenção da permeabilidade

intestinal normal [12]. O ácido butírico produzido pela microbiota induz a produção de mucinas intestinais [13], reforçando a ideia que alterações na população de bactérias produtoras deste SCFA específico podem ser a causa de inflamações e desenvolvimento de doenças metabólicas.

Quanto às doenças hepáticas gordurosas, o desenvolvimento destas enfermidades está relacionado com diversas substâncias. A expressão excessiva dos reguladores de citocinas SOCS 1 e 3 causam resistência à insulina e inibem a lipogênese hepática, comprovado pela normalização da sensibilidade à insulina e metabolismo de lipídeos no fígado em camundongos que tiveram as citocinas em questão inibidas [27], sugerindo uma via de influência da microbiota através da indução de inflamações. Outra substância que influencia o acúmulo hepático de gordura é a colina, uma substância encontrada em ovos e carnes, que possibilita o transporte de lipídeos pelos hepatócitos. Certas bactérias presentes na microbiota são capazes de metabolizar a colina, transformando-a em trimetilamina, que é transformada no fígado em N-óxido de trimetilamina, uma substância tóxica que causa inflamação [23]. Por último, ácidos biliares sintetizados a partir de colesterol não só facilitam a digestão de lipídeos, mas também controlam a população bacteriana intestinal e mantêm a parede intestinal [49]. Esses ácidos biliares, no entanto, podem ser metabolizados pela microbiota, modificando suas funções [38] (Figura V).



**Figura 5 – Vias de influência microbiana sobre o desenvolvimento de NAFLD**

Fonte: Ma [52] – Um diagrama detalhando as rotas de influência que a microbiota exerce sobre o desenvolvimento da esteatose hepática. (LPS = Lipopolissacarídeos; SCFA's = ácidos graxos de cadeia curta; TMA = trimetilamina; TMAO = N-óxido de trimetilamina; LBP = proteína ligadora de lipopolissacarídeos; BA = ácido biliar; NAFLD = doenças hepáticas gordurosas não-alcólicas; TNF- $\alpha$  = fator de necrose tumoral alfa; TLR = receptor tipo toll; CD14 = grupamento de diferenciação 14; UBA = ácido biliar não-conjugado; ZO-1 = proteína de junção celular; FIAF = fator de adipócito induzido por jejum; NF- $\kappa$ B = fator nuclear  $\kappa$ B; MyD88 = fator diferenciador de mielóide 88; FXR = receptor farnesoid X; TGR5 = receptor Takeda com proteína G acoplada; IR = resistência à insulina; IRS = substrato do receptor de insulina; FFA = ácido graxo livre; LPL = lipoproteína lipase).

Curiosamente, a microbiota também pode influenciar doenças metabólicas por meios não convencionais: certas cepas de *Klebsiella pneumoniae* são capazes de produzir etanóis através de seu metabolismo. Essa bactéria foi encontrada em cerca de 60% de pacientes com doenças hepáticas não alcoólicas (NAFLD) de uma clínica chinesa. Além disso, um paciente com esteatose hepática apresentou altos níveis séricos de álcool após consumir uma dieta não alcóolica, mas rica em carboidratos. A *K. pneumoniae* foi isolada e identificada das fezes deste paciente, confirmando que esta era a responsável pela presença de álcool no

sangue [94]. Este mecanismo onde microrganismos produzem quantidades intoxicantes de álcool é conhecido como "Síndrome da Autocervejaria"; populações anormalmente grandes destes microrganismos produtores de álcool podem ter um papel influente nas NAFLDs, potencialmente causando ou intensificando casos já existentes.

Os estudos avaliados investigaram os diversos mecanismos que conectam as doenças metabólicas mencionadas e as vias que a microbiota pode utilizar para afetá-las, e até trouxeram à tona mecanismos menos convencionais.

## 2.5 Outros sistemas do organismo humano afetados pela microbiota

A microbiota também é capaz de afetar outros sistemas do organismo humano, mas tais sistemas são menos estudados em comparação aos sistemas mencionados anteriormente. Como já mencionado, a microbiota intestinal pode exercer influência sobre o organismo humano através do sistema nervoso entérico, sistema imune ou pela produção de metabolitos. Essas vias de ação da microbiota foram o alvo de estudo de Yamashita T. et al. [93] e Quach e Britton [69], que investigaram a possível influência da microbiota intestinal sobre a doença arterial coronariana e a perda de densidade óssea, respectivamente. A doença arterial coronariana se refere a um grupo de doenças caracterizadas pela ocorrência de aterosclerose em artérias cardíacas, enquanto a perda de densidade óssea é um fenômeno natural acentuado pela idade,

que pode ser exacerbado por certos fatores. Ambas as enfermidades ocorrem devido a diversos fatores diferentes, sejam eles imunes, metabólicos ou hormonais.

Yamashita et al. [93] descreveram uma influência metabólica da microbiota através do N-óxido de trimetilamina (TMAO), um metabólito produzido no fígado, derivado de trimetilamina. Os níveis de TMAO no organismo estão associados à microbiota intestinal, uma vez que a trimetilamina é produzida a partir da metabolização de colina e carnitina (substâncias presentes em alimentos como ovos e carnes) por bactérias presentes no intestino. Indivíduos com propensão a doenças cardiovasculares apresentaram altos níveis séricos deste metabólito, sugerindo uma correlação entre a doença coronária arterial, o TMAO e a microbiota intestinal, devido à sua participação na sintetização desta substância [91]. (Figura VI)

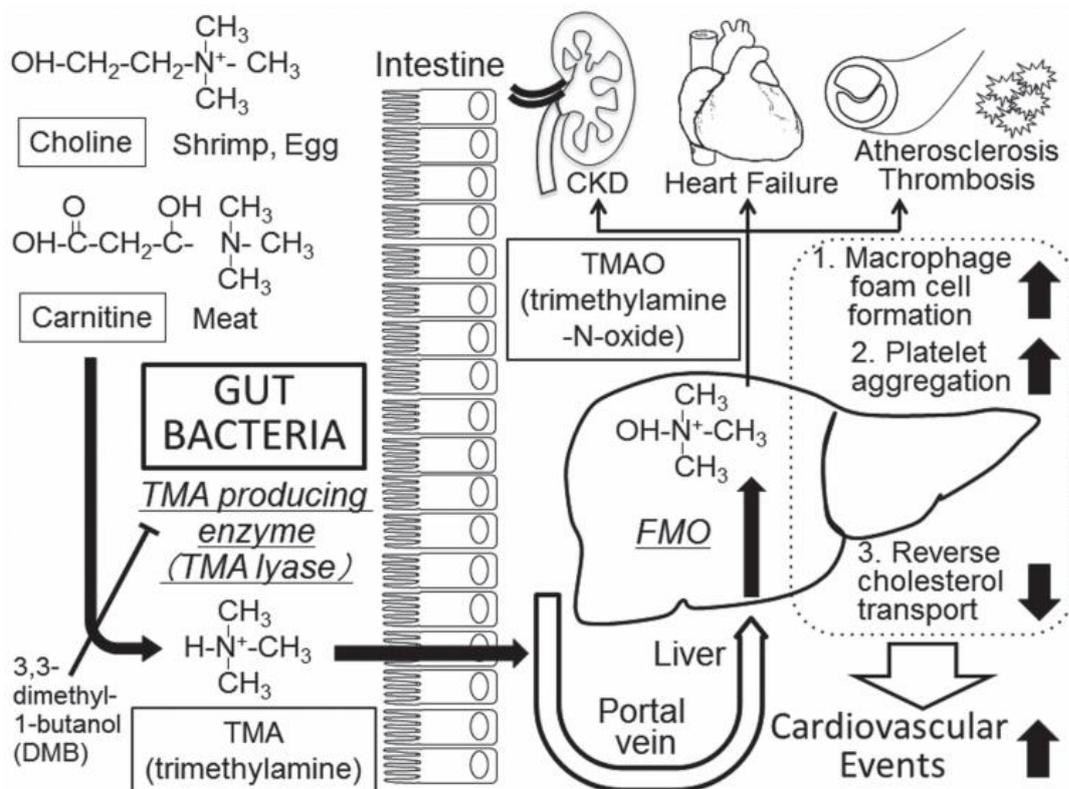


Figura 6 –

**Figura 6** - Rota de síntese do TMAO e seus efeitos no organismo. Fonte: Yamashita [93] – Imagem demonstrando a transformação da colina em trimetilamina, e seus diversos efeitos sobre o organismo humano.

Um desenvolvimento de doenças ósseas devido à microbiota intestinal também foi observado de forma semelhante por Quach e Britton [69], onde

camundongos fêmeas GF demonstraram uma maior densidade óssea (comparados com camundongos normais), menor quantidade de células precursoras de

osteoclastos (a célula responsável pela reabsorção óssea) e linfócitos T CD4(+) na medula óssea e osteoclastos na superfície óssea [82]. O mesmo foi observado em um diferente estudo, onde camundongos fêmeas que receberam antibióticos durante as primeiras semanas de vida (drasticamente alterando a microbiota intestinal) apresentaram maior densidade mineral nos ossos [21]. Estes estudos sugeriram que a microbiota seria capaz de modular a osteoclastogênese e, por consequência, seria responsável pela perda de densidade óssea, mas outros estudos mais recentes investigaram a participação da microbiota mais profundamente. Dois grupos de camundongos fêmeas com deficiência de estrogênio (induzida por leuprorrelina), normais e GF, apresentaram níveis semelhantes de perda óssea devido à osteoporose resultante. Os camundongos também receberam implantes de diferentes bactérias, com diferentes resultados: o probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG causou uma diminuição da permeabilidade do intestino, reduziu inflamações no trato gastrointestinal e conferiu uma proteção contra a perda de densidade óssea. Os camundongos que receberam uma cepa não probiótica de *E. coli* não apresentaram estes efeitos benéficos [44]. Esta proteção contra a osteoporose também foi observada em um estudo semelhante, onde camundongos ovariectomizados receberam a mesma bactéria probiótica [10]. Estes estudos demonstraram que a influência da microbiota sobre a saúde óssea é muito mais complexa e contextual do que previamente imaginada, e altamente dependente da cepa da bactéria em questão.

Adicionalmente, ambos os estudos demonstraram que a microbiota pode agir por meio de diferentes vias ao mesmo tempo. No estudo sobre aterosclerose, Yamashita T. et al. [93] não só descreveram o papel da microbiota intestinal no metabolismo de TMAO e sua influência sobre aterosclerose, mas também mencionaram a sua influência sobre a regulação imune. A microbiota não só é capaz de auxiliar a diferenciação de células Th17 [47] mas também potencialmente influencia a ação da *FOXP3*, uma importante proteína responsável pelo desenvolvimento de linfócitos T regulatórios, que atenuam a resposta imune. Cepas de *Clostridium*

potencialmente causam a aglomeração de linfócitos T reguladores, evidenciado pela maior resistência a colites e reações alérgicas em camundongos que receberam cepas de *Clostridium* na infância [6]. Esta influência do gênero *Clostridium* sobre a regulação imune também foi sugerida em outro experimento que demonstrou que o ácido butírico, metabólito originado por bactérias anaeróbicas do intestino, estimula a produção e diferenciação de linfócitos T reguladores através da suprarregulação epigenética do gene *FOXP3* [30]. Embora ainda se desconheça as causas exatas da aterosclerose, sabe-se que o sistema imune está envolvido devido à presença de interleucinas inflamatórias; por isso, é possível que uma disbiose poderia desregular a resposta imune e sua modulação, potencialmente gerando reações inflamatórias que resultariam na formação da placa aterosclerótica. No estudo sobre a perda de densidade óssea, Quach e Britton [69] não só elaboraram a atuação da microbiota sobre a reabsorção óssea através do sistema imune, mas também discutiram uma possível participação do sistema nervoso central no metabolismo ósseo, sugerindo um possível novo eixo entre o cérebro, intestino e ossos. O hipotálamo, a região do cérebro que conecta o sistema nervoso ao sistema endócrino, é responsável pelo controle endócrino e é sensível a sinalizações provenientes de outros sistemas, como o sistema digestório; uma das possíveis sinalizações que o trato gastrointestinal produz é o estimulante orexigênico neuropeptídeo Y (NPY), que se mostrou capaz de estimular o metabolismo ósseo. A comunicação entre o sistema nervoso central e o sistema digestório permite que o sistema esquelético responda à condição nutricional do organismo pela modulação de sua formação e reabsorção [7]. Essa comunicação também é discutida em outro estudo, que detalha uma semelhante influência dos hormônios leptina e serotonina sobre a modulação metabólica do esqueleto [72]. Considerando esse possível eixo cérebro-osso-intestino, não é difícil considerar a microbiota como uma integrante dessa conexão sistêmica. Estudos já demonstraram a possível ação de probióticos sobre a modulação hormonal, como a estimulação da liberação de oxitocina por *Lactobacillus reuteri*, ambos os hormônios sendo

regulados pelo hipotálamo. A conexão entre o probiótico e o sistema nervoso central foi mais profundamente investigada através do nervo vago. Os camundongos que tiveram esse nervo cortado não apresentaram o aumento dos níveis de oxitocina, sugerindo que a comunicação entre o intestino e o sistema nervoso central é necessário para a atuação do *Lactobacillus reuteri* [67].

## REFERÊNCIAS

- [1] Aagaard K. et al. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med.* 2014 May 21;6(237):237ra65. doi: 10.1126/scitranslmed.3008599.
- [2] Adams JB. Et al. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism--comparisons to typical children and correlation with autism severity. *BMC Gastroenterol.* 2011 Mar 16;11:22. doi: 10.1186/1471-230X-11-22.
- [3] Andrews CN. et al. Mesalazine (5-aminosalicylic acid) alters faecal bacterial profiles, but not mucosal proteolytic activity in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther.* 2011 Aug;34(3):374-83. doi: 10.1111/j.1365-2036.2011.04732.x.
- [4] Angelucci F. et al. Antibiotics, gut microbiota, and Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation.* 2019 May 22;16(1):108. doi: 10.1186/s12974-019-1494-4.
- [5] Asti A., Gioglio L. Can a bacterial endotoxin be a key factor in the kinetics of amyloid fibril formation? *J Alzheimers Dis.* 2014;39(1):169-79. doi: 10.3233/JAD-131394.
- [6] Atarashi K. et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science.* 2011 Jan 21;331(6015):337-41. doi: 10.1126/science.1198469.
- [7] Baldock P. et al. Neuropeptide Y knockout mice reveal a central role of NPY in the coordination of bone mass to body weight. *PLoS One.* 2009 Dec 22;4(12):e8415. doi: 10.1371/journal.pone.0008415.
- [8] Berlim M., Turecki G. Definition, assessment, and staging of treatment-resistant refractory major depression: a review of current concepts and methods. *Can J Psychiatry.* 2007 Jan;52(1):46-54. doi: 10.1177/070674370705200108.
- [9] Biasucci G. et al. Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. *Early Hum Dev.* 2010 Jul;86 Suppl 1:13-5. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2010.01.004.
- [10] Britton R. et al. Probiotic *L. reuteri* treatment prevents bone loss in a menopausal ovariectomized mouse model. *J Cell Physiol.* 2014 Nov;229(11):1822-30. doi: 10.1002/jcp.24636.
- [11] Bolte ER. Autism and *Clostridium tetani*. *Med Hypotheses.* 1998 Aug;51(2):133-44. doi: 10.1016/s0306-9877(98)90107-4.
- [12] Brown C. et al. Gut microbiome metagenomics analysis suggests a functional model for the development of autoimmunity for type 1 diabetes. *PLoS One.* 2011;6(10):e25792. doi: 10.1371/journal.pone.0025792.
- [13] Burger-van Paassen N. et al. The regulation of intestinal mucin MUC2 expression by short-chain fatty acids: implications for epithelial protection. *Biochem J.* 2009 May 13;420(2):211-9. doi: 10.1042/BJ20082222.
- [14] Bäckhed F. et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Nov 2;101(44):15718-23. doi: 10.1073/pnas.0407076101.
- [15] Caminero A. et al. Duodenal bacteria from patients with celiac disease and healthy subjects distinctly affect gluten breakdown and immunogenicity. *Gastroenterology.* 2016 Oct;151(4):670-83. doi: 10.1053/j.gastro.2016.06.041.

- [16] Cani PD. et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007 Jul;56(7):1761-72. doi: 10.2337/db06-1491.
- [17] Cardwell C. et al. Caesarean section is associated with an increased risk of childhood-onset type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. *Diabetologia*. 2008 May;51(5):726-35. doi: 10.1007/s00125-008-0941-z.
- [18] Cattaneo A. et al. Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly. *Neurobiol Aging*. 2017 Jan;49:60-68. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2016.08.019.
- [19] Chen. et al. The alteration of gut microbiota in newly-diagnosed type 2 diabetic patients. *Nutrition*, (), S0899900718303198-. doi:10.1016/j.nut.2018.11.019
- [20] Chibbar R, Dieleman LA. The Gut Microbiota in Celiac Disease and probiotics. *Nutrients*. 2019 Oct 5;11(10):2375. doi: 10.3390/nu11102375.
- [21] Cho I, Yamanishi S, Cox L, Methé BA, Zavadil J, Li K, Gao Z, Mahana D, Raju K, Teitler I, Li H, Alekseyenko AV, Blaser MJ. Antibiotics in early life alter the murine colonic microbiome and adiposity. *Nature*. 2012 Aug 30;488(7413):621-6. doi: 10.1038/nature11400.
- [22] Clarke G. et al. Minireview: Gut microbiota: the neglected endocrine organ. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* vol. 28,8 (2014): 1221-38. doi:10.1210/me.2014-1108
- [23] Corbin KD, Zeisel SH. Choline metabolism provides novel insights into nonalcoholic fatty liver disease and its progression. *Curr Opin Gastroenterol*. 2012 Mar;28(2):159-65. doi: 10.1097/MOG.0b013e32834e7b4b.
- [24] de la Cuesta-Zuluaga J. et al. Metformin Is Associated With Higher Relative Abundance of Mucin-Degrading *Akkermansia muciniphila* and Several Short-Chain Fatty Acid-Producing Microbiota in the Gut. *Diabetes Care*. 2017 Jan;40(1):54-62. doi: 10.2337/dc16-1324.
- [25] Daniel H. et al. High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice. *ISME J*. 2014 Feb;8(2):295-308. doi: 10.1038/ismej.2013.155.
- [26] Dinan TG, Cryan JF. The microbiome-gut-brain axis in health and disease. *Gastroenterol Clin North Am*. 2017 Mar;46(1):77-89. doi: 10.1016/j.gtc.2016.09.007.
- [27] Farrell GC. Signalling links in the liver: knitting SOCS with fat and inflammation. *J Hepatol*. 2005 Jul;43(1):193-6. doi: 10.1016/j.jhep.2005.04.004.
- [28] Focà A. et al. Effects of tetanus toxin after intracerebral microinjection are antagonized by drugs enhancing GABAergic transmission in adult fowls. *Neuropharmacology*. 1984 Feb;23(2A):155-8. doi: 10.1016/S0028-3908(84)80007-6
- [29] Fujimura et al. House dust exposure mediates gut microbiome *Lactobacillus* enrichment and airway immune defense against allergens and virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Jan 14;111(2):805-10. doi: 10.1073/pnas.1310750111.
- [30] Furusawa Y. et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature*. 2013 Dec 19;504(7480):446-50. doi: 10.1038/nature12721.
- [31] Grundy S. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Jun;89(6):2595-600. doi: 10.1210/jc.2004-0372.
- [32] Harach T. et al. Reduction of Aβ amyloid pathology in APPPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota. *Sci Rep*. 2017 Feb 8;7:41802. doi: 10.1038/srep41802.
- [33] Hopfner F. et al. Gut microbiota in Parkinson disease in a northern German cohort. *Brain Res*. 2017 Jul 15;1667:41-45. doi: 10.1016/j.brainres.2017.04.019.
- [34] Hu X, Wang T, Jin F. Alzheimer's disease and gut microbiota. *Sci China Life Sci*. 2016 Oct;59(10):1006-1023. doi: 10.1007/s11427-016-5083-9.
- [35] Huang L. et al. Is elective cesarean section associated with a higher risk of asthma? A meta-analysis. *J Asthma*. 2015 Feb;52(1):16-25. doi: 10.3109/02770903.2014.952435.

- [36] James TA, Collingridge GL. Rapid behavioural and biochemical effects of tetanus toxin microinjected into the substantia nigra: a dual role for GABA? *Neurosci Lett*. 1979 Feb;11(2):205-8. doi: 10.1016/0304-3940(79)90129-0.
- [37] Jaquet M. et al. Impact of coffee consumption on the gut microbiota: a human volunteer study. *Int J Food Microbiol*. 2009 Mar 31;130(2):117-21. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2009.01.011.
- [38] Jiang C. et al. Intestinal farnesoid X receptor signaling promotes nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*. 2015 Jan;125(1):386-402. doi: 10.1172/JCI76738.
- [39] Johansson . et al. Early colonization with a group of Lactobacilli decreases the risk for allergy at five years of age despite allergic heredity. *PLoS One*. 2011;6(8):e23031. doi: 10.1371/journal.pone.0023031.
- [40] Kang YB, Cai Y, Zhang H. Gut microbiota and allergy/asthma: From pathogenesis to new therapeutic strategies. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2017 May-Jun;45(3):305-309. doi: 10.1016/j.aller.2016.08.004.
- [41] Kawoos Y. et al. psychiatric co-morbidity in patients with irritable bowel syndrome at a tertiary care center in northern India. *J Neurogastroenterol Motil*. 2017 Oct 30;23(4):555-560. doi: 10.5056/jnm16166.
- [42] Keshavarzian A. et al. Colonic bacterial composition in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2015 Sep;30(10):1351-60. doi: 10.1002/mds.26307.
- [43] Lee H, Ko G. Effect of metformin on metabolic improvement and gut microbiota. *Appl Environ Microbiol*. 2014 Oct;80(19):5935-43. doi: 10.1128/AEM.01357-14.
- [44] Li J. et al. Sex steroid deficiency-associated bone loss is microbiota dependent and prevented by probiotics. *J Clin Invest*. 2016 Jun 1;126(6):2049-63. doi: 10.1172/JCI86062.
- [45] Li Q, Zhou JM. The microbiota-gut-brain axis and its potential therapeutic role in autism spectrum disorder. *Neuroscience*. 2016 Jun 2;324:131-9. doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.03.013.
- [46] Li Y. et al. Effect of oral feeding with *Clostridium leptum* on regulatory T-cell responses and allergic airway inflammation in mice. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2012 Sep;109(3):201-7. doi: 10.1016/j.anai.2012.06.017.
- [47] Littman D, Rudensky A. Th17 and regulatory T cells in mediating and restraining inflammation. *Cell*. 2010 Mar 19;140(6):845-58. doi: 10.1016/j.cell.2010.02.021. PMID: 20303875.
- [48] Liu E. et al. Study Group. Risk of pediatric celiac disease according to HLA haplotype and country. *N Engl J Med*. 2014 Jul 3;371(1):42-9. doi: 10.1056/NEJMoa1313977.
- [49] Lorenzo-Zúñiga V. et al. Oral bile acids reduce bacterial overgrowth, bacterial translocation, and endotoxemia in cirrhotic rats. *Hepatology*. 2003 Mar;37(3):551-7. doi: 10.1053/jhep.2003.50116.
- [50] Loubinoux J. et al. Sulfate-reducing bacteria in human feces and their association with inflammatory bowel diseases. *FEMS Microbiol Ecol*. 2002 May 1;40(2):107-12. doi: 10.1111/j.1574-6941.2002.tb00942.x.
- [51] Lyte M. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: Microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *Bioessays*. 2011 Aug;33(8):574-81. doi: 10.1002/bies.201100024.
- [52] Ma J, Zhou Q, Li H. Gut Microbiota and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Insights on Mechanisms and Therapy. *Nutrients*. 2017 Oct 16;9(10):1124. doi: 10.3390/nu9101124.
- [53] Madeeh Hashmi A. et al. The fiery landscape of depression: A review of the inflammatory hypothesis. *Pak J Med Sci*. 2013 May;29(3):877-84. doi: 10.12669/pjms.293.3357.
- [54] Mangiola F. et al. Gut microbiota in autism and mood disorders. *World J Gastroenterol*. 2016 Jan 7;22(1):361-8. doi: 10.3748/wjg.v22.i1.361.
- [55] Moco S, Martin FP, Rezzi S. Metabolomics view on gut microbiome modulation by polyphenol-rich foods. *J Proteome Res*. 2012 Oct 5;11(10):4781-90. doi: 10.1021/pr300581s.
- [56] Moir RD, Lathe R, Tanzi RE. The antimicrobial protection hypothesis of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2018

- Dec;14(12):1602-1614. doi: 10.1016/j.jalz.2018.06.3040.
- [57] Naser S. et al. Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis causes Crohn's disease in some inflammatory bowel disease patients. *World J Gastroenterol.* 2014 Jun 21;20(23):7403-15. doi: 10.3748/wjg.v20.i23.7403.
- [58] Nishida A. et al. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin J Gastroenterol.* 2018 Feb;11(1):1-10. doi: 10.1007/s12328-017-0813-5.
- [59] Obata Y, Pachnis V. The Effect of Microbiota and the Immune System on the Development and Organization of the Enteric Nervous System. *Gastroenterology.* 2016 Nov;151(5):836-844. doi: 10.1053/j.gastro.2016.07.044.
- [60] Odamaki T. et al. Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiol.* 2016 May 25;16:90. doi: 10.1186/s12866-016-0708-5.
- [61] Olszak T, An D, Zeissig S, Vera MP, Richter J, Franke A, Glickman JN, Siebert R, Baron RM, Kasper DL, Blumberg RS. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. *Science.* 2012 Apr 27;336(6080):489-93. doi: 10.1126/science.1219328.
- [62] Patterson E. et al. Gut microbiota, obesity and diabetes. *Postgrad Med J.* 2016 May;92(1087):286-300. doi: 10.1136/postgradmedj-2015-133285.
- [63] Pickard J. et al. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunol Rev.* 2017 Sep;279(1):70-89. doi: 10.1111/imr.12567.
- [64] Pierre K, Pellerin L. Monocarboxylate transporters in the central nervous system: distribution, regulation and function. *J Neurochem.* 2005 Jul;94(1):1-14. doi: 10.1111/j.1471-4159.2005.03168.x.
- [65] Pitcher MC, Beatty ER, Cummings JH. The contribution of sulphate reducing bacteria and 5-aminosalicylic acid to faecal sulphide in patients with ulcerative colitis. *Gut.* 2000 Jan;46(1):64-72. doi: 10.1136/gut.46.1.64.
- [66] Pittayanon R. et al. Gut Microbiota in Patients With Irritable Bowel Syndrome-A Systematic Review. *Gastroenterology.* 2019 Jul;157(1):97-108. doi: 10.1053/j.gastro.2019.03.049.
- [67] Poutahidis T. et al. Microbial symbionts accelerate wound healing via the neuropeptide hormone oxytocin. *PLoS One.* 2013 Oct 30;8(10):e78898. doi: 10.1371/journal.pone.0078898.
- [68] Pultz N. et al. Mechanisms by which anaerobic microbiota inhibit the establishment in mice of intestinal colonization by vancomycin-resistant Enterococcus. *J Infect Dis.* 2005 Mar 15;191(6):949-56. doi: 10.1086/428090.
- [69] Quach D, Britton RA. Gut Microbiota and Bone Health. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1033:47-58. doi: 10.1007/978-3-319-66653-2\_4.
- [70] Quigley E. Microbiota-Brain-Gut Axis and Neurodegenerative Diseases. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2017 Oct 17;17(12):94. doi: 10.1007/s11910-017-0802-6.
- [71] Qin L, Wu X, Block ML, Liu Y, Breese GR, Hong JS, Knapp DJ, Crews FT. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration. *Glia.* 2007 Apr 1;55(5):453-62. doi: 10.1002/glia.20467.
- [72] Quiros-Gonzalez I, Yadav VK. Central genes, pathways and modules that regulate bone mass. *Arch Biochem Biophys.* 2014 Nov 1;561:130-6. doi: 10.1016/j.abb.2014.06.005.
- [73] Ridaura V. et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science.* 2013 Sep 6;341(6150):1241214. doi: 10.1126/science.1241214.
- [74] Rieder R. et al. Microbes and mental health: A review. *Brain Behav Immun.* 2017 Nov;66:9-17. doi: 10.1016/j.bbi.2017.01.016.
- [75] Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2009 May;9(5):313-23. doi: 10.1038/nri2515.
- [76] Sanada K. et al. Gut microbiota and major depressive disorder: A systematic review and meta-

- analysis. *J Affect Disord.* 2020 Apr 1;266:1-13. doi: 10.1016/j.jad.2020.01.102.
- [77] Scheperjans F. et al. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Mov Disord.* 2015 Mar;30(3):350-8. doi: 10.1002/mds.26069.
- [78] Sharma R. et al. Rat intestinal mucosal responses to a microbial flora and different diets. *Gut.* 1995 Feb;36(2):209-14. doi: 10.1136/gut.36.2.209.
- [79] Shin R, Suzuki M, Morishita Y. Influence of intestinal anaerobes and organic acids on the growth of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *J Med Microbiol.* 2002 Mar;51(3):201-206. doi: 10.1099/0022-1317-51-3-201.
- [80] Simpson CA et al. Feeling down? A systematic review of the gut microbiota in anxiety/depression and irritable bowel syndrome. *J Affect Disord.* 2020 Apr 1;266:429-446. doi: 10.1016/j.jad.2020.01.124. Epub 2020 Jan 22. PMID: 32056910.
- [81] Sjöberg V. et al. Intestinal T-cell responses in celiac disease - impact of celiac disease associated bacteria. *PLoS One.* 2013;8(1):e53414. doi: 10.1371/journal.pone.0053414.
- [82] Sjögren K, Engdahl C, Henning P, Lerner UH, Tremaroli V, Lagerquist MK, Bäckhed F, Ohlsson C. The gut microbiota regulates bone mass in mice. *J Bone Miner Res.* 2012 Jun;27(6):1357-67. doi: 10.1002/jbmr.1588.
- [83] Sonnenburg J. et al. Glycan foraging in vivo by an intestine-adapted bacterial symbiont. *Science.* 2005 Mar 25;307(5717):1955-9. doi: 10.1126/science.1109051.
- [84] Soscia S. et al. The Alzheimer's disease-associated amyloid beta-protein is an antimicrobial peptide. *PLoS One.* 2010 Mar 3;5(3):e9505. doi: 10.1371/journal.pone.0009505.
- [85] Stout M. et al. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *Am J Obstet Gynecol.* 2013 Mar;208(3):226.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2013.01.018. Epub 2013 Jan 17.
- [86] Takahashi K. et al. Reduced Abundance of Butyrate-Producing Bacteria Species in the Fecal Microbial Community in Crohn's Disease. *Digestion.* 2016;93(1):59-65. doi: 10.1159/000441768.
- [87] Thum C. et al. Can nutritional modulation of maternal intestinal microbiota influence the development of the infant gastrointestinal tract? *J Nutr.* 2012 Nov;142(11):1921-8. doi: 10.3945/jn.112.166231.
- [88] Turnbaugh P. et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature.* 2009 Jan 22;457(7228):480-4. doi: 10.1038/nature07540.
- [89] Turnbaugh P. et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* 2006 Dec 21;444(7122):1027-31. doi: 10.1038/nature05414.
- [90] Vallianou NG, Stratigou T, Tsagarakis S. Metformin and gut microbiota: their interactions and their impact on diabetes. *Hormones (Athens).* 2019 Jun;18(2):141-144. doi: 10.1007/s42000-019-00093-w.
- [91] Wang Z. et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature.* 2011 Apr 7;472(7341):57-63. doi: 10.1038/nature09922.
- [92] Xu Z, Knight R. Dietary effects on human gut microbiome diversity. *Br J Nutr.* 2015 Jan;113 Suppl(Suppl 0 ):S1-5. doi: 10.1017/S0007114514004127.
- [93] Yamashita T. et al. Gut Microbiota and Coronary Artery Disease. *Int Heart J.* 2016 Dec 2;57(6):663-671. doi: 10.1536/ihj.16-414. Epub 2016 Nov 4. PMID: 27818484.
- [94] Yuan J. et al. Fatty Liver Disease Caused by High-Alcohol-Producing *Klebsiella pneumoniae*. *Cell Metabolism*, (), S1550413119304474-. doi:10.1016/j.cmet.2019.08.018
- [95] Zhang Y. et al. Target Intestinal Microbiota to Alleviate Disease Progression in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Clin Ther.* 2017 Feb;39(2):322-336. doi: 10.1016/j.clinthera.2016.12.014.

### 3. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Esta revisão bibliográfica teve como objetivo reunir os conhecimentos atuais a respeito da influência da microbiota intestinal sobre a saúde humana, através da busca por materiais em sites acadêmicos, a fim de aprofundar o entendimento desta área para uma eventual atuação nesta área.

Não há dúvida que a microbiota intestinal tem uma íntima conexão com o ser humano hospedeiro. As mudanças na composição da microbiota e seus efeitos já são bem conhecidos, mas conhecimentos mais aprofundados a respeito dos mecanismos atrás da possível influência que a microbiota tem sobre o organismo só começaram a surgir recentemente. Esta área de estudo demonstra imenso potencial, trazendo possíveis explicações para enfermidades ainda não bem compreendidas, revelando vias de influência desconhecidas e sugerindo novos tratamentos.

De maneira geral, a microbiota intestinal se demonstrou capaz de influenciar o resto do organismo de maneiras diretas, como a produção de metabólitos que influenciam outros sistemas ou atravessam o sistema nervoso entérico e alcançam o sistema nervoso central, ou de maneiras indiretas, escapando de seu ambiente natural devido a um aumento da permeabilidade do intestino e causando reações inflamatórias. Alguns estudos também detalharam vias mais específicas de influência, como acúmulo de placas amiloides na doença de Alzheimer, a produção de toxina tetânica no autismo e a conversão de colina em TMAO na aterosclerose.

A microbiota se demonstrou capaz de prevenir e causar certas enfermidades. Obviamente, isso se dá pelas diferentes espécies que se encontram no microbioma intestinal, sendo elas tanto bactérias benéficas como bactérias potencialmente patogênicas. A sua atuação na saúde humana é dependente do equilíbrio populacional microbiano. Em condições normais, bactérias nocivas são inibidas pelas bactérias simbiotes, que protegem o hospedeiro contra colonizações destas bactérias patogênicas. O material aqui investigado sugere que as disbioses causam enfermidades tanto pelo aumento de bactérias nocivas como pela perda de bactérias benéficas.

Dentre os diversos motivos que causam modificações na microbiota, o uso de antibióticos orais é um deles, principalmente os de amplo espectro de ação. A eliminação bruta que estes fármacos oferecem destrói o delicado equilíbrio da microbiota intestinal, levando a disfunções no organismo. O uso de antibióticos já é restrito, devido ao potencial de criação de cepas resistentes ao efeito destes devido à uso indevido, mas o potencial mal que pode ser causado pela alteração súbita e severa da microbiota mediante o uso de antibióticos também deve ser considerado.

Considerando a importância que a microbiota tem, e seu potencial de influenciar o organismo humano, vários pesquisadores consideraram a sua manipulação para o tratamento de diversas doenças. Através da eliminação de bactérias nocivas e o estímulo do crescimento de bactérias benígnas, seria possível atenuar os sintomas, ou até mesmo curar certas enfermidades. No entanto, a área da pesquisa envolvendo a microbiota ainda é muito nova, e mais pesquisas são necessárias para totalmente decifrar o funcionamento dos microrganismos que convivem com o ser humano. Juntamente com o projeto do genoma humano, foi realizado um projeto do metagenoma humano, referente ao material genético localizado nas populações microbianas da

microbiota humana; esses projetos revelaram a filogenia de boa parte destes microrganismos, mas o perfil metagenético da microbiota intestinal humana completo ainda é desconhecido.

Atualmente, já são utilizados como tratamento probióticos microrganismos benígnos que providenciam benefícios para a saúde e prebióticos, substâncias que estimulam o crescimento desses microrganismos benígnos. Contudo, seu uso e potenciais efeitos ainda não são totalmente cientificamente comprovados. Probióticos são amplamente disponíveis na forma de iogurtes e outros produtos fermentados, mas a sua dose e consumo não são propriamente regulados, gerando nenhum efeito benéfico na melhor das hipóteses. Para a utilização destes compostos de maneira efetiva, é necessária uma caracterização detalhada da microbiota do paciente, identificando quais populações microbianas estão em níveis anormais, e administrar pro e prebióticos em quantidades adequadas, como qualquer outro fármaco. Antibióticos também estão sendo considerados possíveis tratamentos para disbioses, mas como já mencionado, sua ação é destrutiva demais e oferece mais desvantagens que benefícios.

Vale a pena também considerar o efeito que a dieta pode exercer sobre a microbiota. Como já foi mencionado, a dieta pode afetar a microbiota tanto positivamente quanto negativamente. A dieta ocidental, que é rica em gordura e açúcares, é responsável por diversas patologias e drasticamente altera a composição da microbiota de forma nociva. No entanto, adoção de uma dieta mais saudável não produz efeitos significativos na microbiota em curto prazo, e seria insensato desconsiderar outros fatores que influenciam na patologia de doenças além da microbiota (o sedentarismo na obesidade, por exemplo). Apesar disto, o consumo de alimentos mais saudáveis é uma alternativa vultosa que amplamente traz benefícios para a saúde humana, e não deveria ser desconsiderada.

Levando tudo o que foi investigado neste trabalho, a utilização da microbiota e sua íntima conexão com o ser humano como tratamento para certas doenças tem um potencial enorme. Apesar do fato de esta área de pesquisa ainda estar na sua infância, muitos pesquisadores demonstram grande interesse, e novos experimentos estão sendo realizados atualmente. Com suficiente paciência e dedicação, desvendar os mistérios da microbiota pode trazer novas descobertas de valor inimaginável para a saúde e qualidade de vida humana.

## REFERÊNCIAS

AAGAARD K. et al. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014 May 21;6(237):237ra65. doi: 10.1126/scitranslmed.3008599.

CLARKE G. et al. Minireview: Gut microbiota: the neglected endocrine organ. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* vol. 28,8 (2014): 1221-38. doi:10.1210/me.2014-1108

OBATA Y, PACHNIS V. The Effect of Microbiota and the Immune System on the Development and Organization of the Enteric Nervous System. *Gastroenterology*. 2016 Nov;151(5):836-844. doi: 10.1053/j.gastro.2016.07.044.

STOUT M. et al. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *Am J Obstet Gynecol*. 2013 Mar;208(3):226.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2013.01.018. Epub 2013 Jan 17.

# ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA HUMAN MICROBIOME JOURNAL



## HUMAN MICROBIOME JOURNAL

### AUTHOR INFORMATION PACK

#### TABLE OF CONTENTS

• <b>Description</b>	<b>p.1</b>
• <b>Abstracting and Indexing</b>	<b>p.1</b>
• <b>Editorial Board</b>	<b>p.1</b>
• <b>Guide for Authors</b>	<b>p.3</b>



ISSN: 2452-2317

#### DESCRIPTION

The innumerable microbes living in and on our bodies are known to affect human wellbeing, but our knowledge of their role is still at the very early stages of understanding. *Human Microbiome* is a specialist open access journal dedicated to research on the impact of the microbiome on human health and disease. The journal publishes original research, reviews, comments, human microbe descriptions and genome, and letters. Topics covered include: the repertoire of human-associated microbes, therapeutic intervention, pathophysiology, experimental models, physiological, geographical, and pathological changes, and technical reports; genomic, metabolomic, transcriptomic, and culturomic approaches are welcome.

#### ABSTRACTING AND INDEXING

Directory of Open Access Journals (DOAJ)  
Embase  
Scopus

#### EDITORIAL BOARD

##### *Editor-in-Chief*

**Didier Raoult**, IHU Mediterranean Infection - Infectious Disease and Microbiology, Marseille, France  
Genetics, Genomics, Metagenomics, biological evolution, classification, infection, communicable diseases, com dis.(emerging), vaccination, bacterial infections, bacterial infection and mycosis, gram negative bacterial infection, microbiology, bacteria (aerobic, anaerobic), gram negative bacteria, gram positive bacteria, archaea, viruses, viral genome, viral genes, endocarditis, microbiota, biota, multiple drug resistance, Q fever, Rickettsia, R. felis, R. typhi, R. conorii, boutonneuse fever, homeless people, lyme disease, insects, siphonaphtera, arthropods, pediculus, ticks, Clostridium difficile, tick-borne disease, cat-scratch disease, bartonella infections, trench fever, vertebrate viruses, brain abscess, yersinia, whipple disease, amoeba, mimiviridae, parasitic diseases, zoonoses.

##### *Associate Editors*

**Emmanouil Angelakis**, Hellenic Pasteur Institute, Athens, Greece  
Infectious diseases, coxiella burnettii

**Esam Ibraheem Ahmed Azhar**, King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia  
Immunology and Microbiology; Biochemistry, Genetics and Molecular Biology

---

**Fernando Baquero**, Ramón & Cajal University Hospital, Ramón & Cajal Institute for Health research (IRYCIS), Department of Microbiology, Madrid, Spain  
Microbial Molecular Biology, Medical Microbiology, Antibiotics, Molecular Bacteriology, Evolutionary Biology, Antibiotic Resistance, Antimicrobials, Microbiology, Evolution, Bacterial Antibiotic Resistance

**Ziad Daoud**, University of Balamand, Faculty of Medicine and Medical Sciences, Department of of Biomedical Sciences, Amloun, Lebanon  
Clinical Microbiology, Antimicrobial Resistance, Intestinal Microbiome

**Pierre-Edouard Fournier**, Aix-Marseille I University, Marseille, France  
Intracellular bacteria; *Coxiella burnetii*; *Rickettsia*; *Bartonella*; diagnosis; molecular detection; genome sequencing; taxonomy

**Gilbert Greub**, University of Lausanne, Lausanne, Switzerland  
Chlamydia, Emerging pathogen, Free-living amoebae, Intracellular bacteria, Macrophage, Parachlamydia, Pneumonia

**Gianluca Ianiro**, University Hospital Agostino Gemelli Digestive Disease Center, Roma, Italy  
Gut microbiota, fecal microbiota transplantation

**Jean-Christophe Lagier**, IHU Méditerranée Infection, MEPHI Aix Marseille Université IRD, Marseille Cedex 05, France  
Microbiota, Culturomics, *Clostridium difficile* infections

**Paul Lawson**, The University of Oklahoma Department of Microbiology and Plant Biology, Norman, Oklahoma, United States of America  
Anaerobes, microbial taxonomy, clostridium, lactic acid bacteria, chemotaxonomy

**Max Maurin**, University Grenoble Alpes Faculty of Medicine, Grenoble, France  
Antibiotic susceptibility testing of intracellular bacteria and Antibiotic treatment of zoonosis.

**Raymond Ruimy**, University Hospital Centre Nice, Nice, France  
Immunology and Microbiology; Biochemistry Genetics and Molecular Biology; Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutics

**Stanislav Sitkin**, North Western State Medical University Department of Internal Diseases Gastroenterology and Dietetics, Saint Petersburg, Russian Federation  
Gastrointestinal diseases, inflammatory bowel disease, celiac disease, IBS, liver disease, metabolic disorders, human gut microbiome, dysbiosis, metabolomics, microbial metabolic pathways, microbial metabolites, microbial biomarkers, probiotics, prebiotics, postbiotics, dietary fibre

**Jordi Vila**, University of Barcelona, Barcelona, Spain  
Antimicrobial resistance, Antibiotic Resistance, Viral and Bacterial Infections

**Hongwei Zhou**, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, China  
Human Microbiome, Laboratory Medicine, System Biology

---

## GUIDE FOR AUTHORS

---

### *Types of article*

#### **Original Article**

Unstructured abstract (up to 250 words)  
5-10 keywords  
2500 words maximum  
4 to 5 tables/figures maximum (optional colour online)  
30 references maximum

#### **Review Article**

Unstructured abstract (up to 250 words)  
5-10 keywords  
3000 words maximum  
3 to 4 tables/figures maximum (optional colour online)  
50 references maximum

#### **Infection Hot Topic**

Unstructured abstract (up to 100 words)  
5 keywords  
1000 words maximum (no subheadings)  
1 table/figure maximum  
5 references maximum

#### **Short Communication**

Unstructured abstract (up to 100 words)  
5 keywords  
1000 words maximum (no subheadings)  
2 tables/figures maximum  
20 references maximum

#### **New Species Announcement**

Unstructured abstract (up to 50 words)  
500 words maximum (no subheadings)  
1 table/figure maximum  
5 references maximum

#### **Letter to the Editor**

Letters will be considered for publication if they contain constructive criticism on articles published within the previous three months, the authors of which will be given the right of reply. Letters must specify the title and authors of the article they are writing about. Items of topical interest, including case reports presenting a significant advance in therapy or highlighting substantial scientific advances in understanding the mechanism(s) of the disease process, will also be considered under this heading. Letters should not exceed 1000 words, have no more than 5 references and only 1 figure/table. Letters should begin 'Sir', and should have no abstract.

#### *Contact details for submission*

If you have any problems submitting your paper through this system, please contact the Editorial Office on [humic@mediterranean-infection.com](mailto:humic@mediterranean-infection.com)

#### *Submission checklist*

You can use this list to carry out a final check of your submission before you send it to the journal for review. Please check the relevant section in this Guide for Authors for more details.

#### **Ensure that the following items are present:**

One author has been designated as the corresponding author with contact details:

- E-mail address
- Full postal address

All necessary files have been uploaded:

*Manuscript:*

- Include keywords
- All figures (include relevant captions)
- All tables (including titles, description, footnotes)
- Ensure all figure and table citations in the text match the files provided
- Indicate clearly if color should be used for any figures in print

*Graphical Abstracts / Highlights files* (where applicable)

*Supplemental files* (where applicable)

Further considerations

- Manuscript has been 'spell checked' and 'grammar checked'
- All references mentioned in the Reference List are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet)
- A competing interests statement is provided, even if the authors have no competing interests to declare
- Journal policies detailed in this guide have been reviewed
- Referee suggestions and contact details provided, based on journal requirements

For further information, visit our [Support Center](#).

## **BEFORE YOU BEGIN**

### ***Ethics in publishing***

Please see our information pages on [Ethics in publishing](#) and [Ethical guidelines for journal publication](#).

### ***Studies in humans and animals***

If the work involves the use of human subjects, the author should ensure that the work described has been carried out in accordance with [The Code of Ethics of the World Medical Association \(Declaration of Helsinki\)](#) for experiments involving humans. The manuscript should be in line with the [Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing and Publication of Scholarly Work in Medical Journals](#) and aim for the inclusion of representative human populations (sex, age and ethnicity) as per those recommendations. The terms [sex](#) and [gender](#) should be used correctly.

Authors should include a statement in the manuscript that informed consent was obtained for experimentation with human subjects. The privacy rights of human subjects must always be observed.

All animal experiments should comply with the [ARRIVE guidelines](#) and should be carried out in accordance with the U.K. [Animals \(Scientific Procedures\) Act, 1986](#) and associated guidelines, [EU Directive 2010/63/EU for animal experiments](#), or the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978) and the authors should clearly indicate in the manuscript that such guidelines have been followed. The sex of animals must be indicated, and where appropriate, the influence (or association) of sex on the results of the study.

### ***Informed consent and patient details***

Studies on patients or volunteers require ethics committee approval and informed consent, which should be documented in the paper. Appropriate consents, permissions and releases must be obtained where an author wishes to include case details or other personal information or images of patients and any other individuals in an Elsevier publication. Written consents must be retained by the author but copies should not be provided to the journal. Only if specifically requested by the journal in exceptional circumstances (for example if a legal issue arises) the author must provide copies of the consents or evidence that such consents have been obtained. For more information, please review the [Elsevier Policy on the Use of Images or Personal Information of Patients or other Individuals](#). Unless you have written permission from the patient (or, where applicable, the next of kin), the personal details of any patient included in any part of the article and in any supplementary materials (including all illustrations and videos) must be removed before submission.

### **Declaration of competing interest**

All authors must disclose any financial and personal relationships with other people or organizations that could inappropriately influence (bias) their work. Examples of potential conflicts of interest include employment, consultancies, stock ownership, honoraria, paid expert testimony, patent applications/registrations, and grants or other funding. Authors should create a declaration of competing interest statement using [this tool](#) and upload to the submission system at the Attach Files step. **Note: Please do not convert the .docx template to another file type. Author signatures are not required.** This statement will be published within the article if accepted.

### **Submission declaration and verification**

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. To verify originality, your article may be checked by the originality detection service [Crossref Similarity Check](#).

### **Preprints**

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

### **Use of inclusive language**

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Content should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader; contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition; and use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, stereotypes, slang, reference to dominant culture and/or cultural assumptions. We advise to seek gender neutrality by using plural nouns ("clinicians, patients/clients") as default/wherever possible to avoid using "he, she," or "he/she." We recommend avoiding the use of descriptors that refer to personal attributes such as age, gender, race, ethnicity, culture, sexual orientation, disability or health condition unless they are relevant and valid. These guidelines are meant as a point of reference to help identify appropriate language but are by no means exhaustive or definitive.

### **Author contributions**

For transparency, we encourage authors to submit an author statement file outlining their individual contributions to the paper using the relevant CRediT roles: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Funding acquisition; Investigation; Methodology; Project administration; Resources; Software; Supervision; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. Authorship statements should be formatted with the names of authors first and CRediT role(s) following. [More details and an example](#)

### **Authorship**

All authors should have made substantial contributions to all of the following: (1) the conception and design of the study, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data, (2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content, (3) final approval of the version to be submitted.

### **Changes to authorship**

Authors are expected to consider carefully the list and order of authors **before** submitting their manuscript and provide the definitive list of authors at the time of the original submission. Any addition, deletion or rearrangement of author names in the authorship list should be made only **before** the manuscript has been accepted and only if approved by the Journal Editor. To request such a change, the Editor must receive the following from the **corresponding author**: (a) the reason for the change in author list and (b) written confirmation (e-mail, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed.

---

Only in exceptional circumstances will the Editor consider the addition, deletion or rearrangement of authors **after** the manuscript has been accepted. While the Editor considers the request, publication of the manuscript will be suspended. If the manuscript has already been published in an online issue, any requests approved by the Editor will result in a corrigendum.

#### *Article transfer service*

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal.

[More information.](#)

#### **Copyright**

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'License Agreement' (see [more information](#) on this). Permitted third party reuse of open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

#### **Author rights**

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information.](#)

#### *Elsevier supports responsible sharing*

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

#### **Role of the funding source**

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

#### **Open access**

Please visit our [Open Access page](#) for more information.

#### *Elsevier Researcher Academy*

[Researcher Academy](#) is a free e-learning platform designed to support early and mid-career researchers throughout their research journey. The "Learn" environment at Researcher Academy offers several interactive modules, webinars, downloadable guides and resources to guide you through the process of writing for research and going through peer review. Feel free to use these free resources to improve your submission and navigate the publication process with ease.

#### *Language (usage and editing services)*

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Authors who feel their English language manuscript may require editing to eliminate possible grammatical or spelling errors and to conform to correct scientific English may wish to use the [English Language Editing service](#) available from Elsevier's Author Services.

#### **Submission**

Our online submission system guides you stepwise through the process of entering your article details and uploading your files. The system converts your article files to a single PDF file used in the peer-review process. Editable files (e.g., Word, LaTeX) are required to typeset your article for final publication. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, is sent by e-mail.

Please submit your article via <https://www.editorialmanager.com/humic/default.aspx>

### **PREPARATION**

#### **Peer review**

This journal operates a single anonymized review process. All contributions will be initially assessed by the editor for suitability for the journal. Papers deemed suitable are then typically sent to a minimum of two independent expert reviewers to assess the scientific quality of the paper. The Editor is responsible for the final decision regarding acceptance or rejection of articles. The Editor's decision is final. Editors are not involved in decisions about papers which they have written themselves or have been written by family members or colleagues or which relate to products or services in which the editor has an

interest. Any such submission is subject to all of the journal's usual procedures, with peer review handled independently of the relevant editor and their research groups. [More information on types of peer review.](#)

#### *Submission by an editor*

A paper submitted by an editor or board member (including submission as a co-author) will be handled by one of the other Senior Editors who will manage the peer review process. The Journal's submission system does not allow Editors to manage their own papers in the system.

#### *Use of word processing software*

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the [Guide to Publishing with Elsevier](#)). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

#### **Article structure**

##### *Subdivision - numbered sections*

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

##### **Essential title page information**

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. You can add your name between parentheses in your own script behind the English transliteration. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. This responsibility includes answering any future queries about Methodology and Materials. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

##### **Highlights**

Highlights are optional yet highly encouraged for this journal, as they increase the discoverability of your article via search engines. They consist of a short collection of bullet points that capture the novel results of your research as well as new methods that were used during the study (if any). Please have a look at the examples here: [example Highlights](#).

Highlights should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point).

##### *Graphical abstract*

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a

separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view [Example Graphical Abstracts](#) on our information site.

Authors can make use of Elsevier's [Illustration Services](#) to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements.

#### **Keywords**

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

#### **Acknowledgements**

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

#### **Artwork**

##### *Electronic artwork*

##### *General points*

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.
- Ensure that color images are accessible to all, including those with impaired color vision.

A detailed [guide on electronic artwork](#) is available.

**You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.**

##### *Formats*

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format.

Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

##### **Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

##### *Illustration services*

[Elsevier's Author Services](#) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

##### *Figure captions*

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

### Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

### References

#### Citation in text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication.

#### Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

#### References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

#### Reference style

**Text:** Indicate references by number(s) in square brackets in line with the text. The actual authors can be referred to, but the reference number(s) must always be given.

**List:** Number the references (numbers in square brackets) in the list in the order in which they appear in the text.

#### Examples:

Reference to a journal publication:

[1] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *J Sci Commun* 2010;163:51–9. <https://doi.org/10.1016/j.Sc.2010.00372>.

Reference to a journal publication with an article number:

[2] Van der Geer J, Hanraads JAJ, Lupton RA. The art of writing a scientific article. *Heliyon*. 2018;19:e00205. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00205>

Reference to a book:

[3] Strunk Jr W, White EB. *The elements of style*. 4th ed. New York: Longman; 2000.

Reference to a chapter in an edited book:

[4] Mettam GR, Adams LB. How to prepare an electronic version of your article. In: Jones BS, Smith RZ, editors. *Introduction to the electronic age*, New York: E-Publishing Inc; 2009, p. 281–304.

Reference to a website:

[5] Cancer Research UK. *Cancer statistics reports for the UK*, <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/>; 2003 [accessed 13 March 2003].

Reference to a dataset:

[dataset] [6] Oguro M, Imahiro S, Saito S, Nakashizuka T. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions, Mendeley Data, v1; 2015. <https://doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Note shortened form for last page number. e.g., 51–9, and that for more than 6 authors the first 6 should be listed followed by 'et al.' For further details you are referred to 'Uniform Requirements for Manuscripts submitted to Biomedical Journals' (*J Am Med Assoc* 1997;277:927–34) (see also [Samples of Formatted References](#)).

(see also [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html))

### Video

Elsevier accepts video material and animation sequences to support and enhance your scientific research. Authors who have video or animation files that they wish to submit with their article are strongly encouraged to include links to these within the body of the article. This can be done in the

same way as a figure or table by referring to the video or animation content and noting in the body text where it should be placed. All submitted files should be properly labeled so that they directly relate to the video file's content. In order to ensure that your video or animation material is directly usable, please provide the file in one of our recommended file formats with a preferred maximum size of 150 MB per file, 1 GB in total. Video and animation files supplied will be published online in the electronic version of your article in Elsevier Web products, including [ScienceDirect](#). Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data. For more detailed instructions please visit our [video instruction pages](#). Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

#### **Supplementary material**

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

#### **Research data**

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

##### *Data linking*

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

##### *Mendeley Data*

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for Journals page](#).

#### *Data statement*

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

### **AFTER ACCEPTANCE**

#### ***Use of the Digital Object Identifier***

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

#### ***Online proof correction***

To ensure a fast publication process of the article, we kindly ask authors to provide us with their proof corrections within two days. Corresponding authors will receive an e-mail with a link to our online proofing system, allowing annotation and correction of proofs online. The environment is similar to MS Word: in addition to editing text, you can also comment on figures/tables and answer questions from the Copy Editor. Web-based proofing provides a faster and less error-prone process by allowing you to directly type your corrections, eliminating the potential introduction of errors.

If preferred, you can still choose to annotate and upload your edits on the PDF version. All instructions for proofing will be given in the e-mail we send to authors, including alternative methods to the online version and PDF.

We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication. Please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility.

#### ***Offprints***

The corresponding author will be notified and receive a link to the published version of the open access article on [ScienceDirect](#). This link is in the form of an article DOI link which can be shared via email and social networks. For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's [Author Services](#).

### **AUTHOR INQUIRIES**

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or [find out when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>