

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

Luísa de Oliveira Jung

**ALTERAÇÕES DA MICROBIOTA PELO USO DE PROBIÓTICOS: UMA REVISÃO
DE LITERATURA**

Porto Alegre

2022

Luísa de Oliveira Jung

**ALTERAÇÕES DA MICROBIOTA PELO USO DE PROBIÓTICOS: UMA REVISÃO
DE LITERATURA**

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(a) em Biomedicina.

Orientador(a): Professora Dra. Gertrudes Corção

Porto Alegre

2022

CIP - Catalogação na Publicação

Jung, Luísa de Oliveira
ALTERAÇÕES DA MICROBIOTA PELO USO DE PROBIÓTICOS:
UMA REVISÃO DE LITERATURA / Luísa de Oliveira Jung.
-- 2022.
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, 2022.

1. Probióticos. 2. Alterações da Microbiota. 3.
Alterações da Microbiota pelo uso de Probióticos. I.
Corção, Gertrudes, orient. II. Título.

Luísa de Oliveira Jung

**ALTERAÇÕES DA MICROBIOTA PELO USO DE PROBIÓTICOS: UMA REVISÃO
DE LITERATURA**

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(a) em Biomedicina.

Aprovado em: 11 de maio de 2022.

BANCA EXAMINADORA

Dra. Natacha Allgayer Tomasi - ULBRA

Dra. Danielle Machado Pagani - UFRGS

Profª. Gertrudes Corção - DEMIP/ICBS/UFRGS (orientadora)

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer aos meus pais Maria Eliani e Gelson que sempre me incentivaram e apoiaram durante toda a minha trajetória na Biomedicina. Mesmo com todas as dificuldades encontradas pelo caminho, sempre tive o suporte dos dois, sendo sempre meus maiores incentivadores.

Gostaria também de agradecer à minha tia Edi que durante todo meu período de graduação me apoiou intensamente para que eu atingisse meus objetivos, além de suporte financeiro para que eu pudesse estudar em turno integral.

Também quero deixar meus agradecimentos à minha irmã e melhor amiga Júlia, que esteve do meu lado em todos os momentos, me dando apoio incondicional, me motivando e incentivando a atingir meus objetivos e sonhos.

Agradeço aos meus colegas de graduação por todo o amparo e auxílio durante a graduação.

Gostaria de agradecer à professora Gertrudes Corção pela paciência e confiança em orientar meu trabalho.

Agradeço também aos meus amigos que me apoiaram na reta final da escrita deste trabalho, por me motivarem e entenderem minha ausência durante o período de elaboração.

E por último, deixo meus agradecimentos ao Curso de Biomedicina da UFRGS, onde pude experimentar momentos inesquecíveis, adquirir conhecimentos e evoluir.

*A menos que modifiquemos
a nossa maneira de pensar,
não seremos capazes
de resolver os problemas causados
pela forma como nos acostumamos
a ver o mundo.*

Albert Einstein.

RESUMO

Probióticos são grupos de microrganismos que têm potencial benéfico à saúde humana e que auxiliam na proliferação da microbiota saudável e na saúde do trato gastrointestinal. A microbiota intestinal humana faz parte de um conjunto de células hospedeiras, bactérias, vírus (a maioria bacteriófagos) e algumas espécies de fungos encontrados no intestino humano. Dentre os papéis que a microbiota exerce está a imunomodulação, protegendo o organismo contra várias doenças. Além disso, a microbiota intestinal também exerce um papel importante na nutrição humana, no metabolismo e na imunidade. Existem indícios de que os probióticos são capazes de modular o sistema imune, influenciar as proteínas de junção estreita, diminuindo a permeabilidade intestinal, inibir a proliferação de microrganismos patogênicos e restabelecer a homeostase intestinal, além de ter influência na melhora de sintomas de doenças ocasionadas por estresse oxidativo como artrite reumatóide, doenças cardíacas, doença de Parkinson e envelhecimento. Levando em consideração que os probióticos têm uma grande influência na restauração da saúde e equilíbrio da microbiota humana, é interessante entender o funcionamento e quais alterações ocorrem na microbiota quando estas cepas bacterianas são introduzidas. Este artigo aborda uma revisão sobre as espécies *Escherichia coli*, e de espécies pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, entre outras espécies bacterianas relevantes utilizadas como probióticos e as alterações que estas estimulam na microbiota humana.

Palavras-chave: Microbiota; Probióticos; Microbiota Alterada.

ABSTRACT

Probiotics are groups of microorganisms that have the potential to benefit human health. The human gut microbiota is part of a set of host cells, bacteria, viruses (mostly bacteriophages) and some species of fungi found in the human gut. Among the roles that the microbiota plays are immunomodulation, protecting the body against various diseases. In addition, the gut microbiota also plays an important role in human nutrition, metabolism and immunity. There are indications that probiotics can modulate the immune system, influence the tight junction proteins, therefore, decreasing intestinal permeability, inhibit the proliferation of pathogenic microorganisms and restore intestinal homeostasis. In addition, they can have an influence on the improvement of symptoms of the diseases caused by oxidative stress such as rheumatoid arthritis, heart disease, Parkinson's disease and aging. Considering that probiotics have a great influence on restoring the health and balance of the human microbiota, it is interesting to understand the functioning and which changes occur in the microbiota when these bacterial strains are introduced. This article discusses a review of *Escherichia coli*, *Lactobacillus* species, *Bifidobacterium* species, among other relevant bacterial species used as probiotics and the changes that these species stimulate in the human microbiota.

Keywords: Microbiota and Probiotics; Microbiota changes by the use of probiotics; Probiotics.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TGI - Tratógastrointestinal

T-regs - Células T reguladoras

TLR - Receptores do tipo Toll

EcN - *Escherichia coli Nissle*

OMVs - vesículas de membrana externa

DP - Doença de Parkinson

NOD - Domínio de oligomerização de ligação de nucleotídeos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO COMPREENSIVA.....	11
1.1.1 Objetivo Geral.....	12
1.1.2 Objetivos específicos.....	12
2. ARTIGO CIENTÍFICO.....	12
3 CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	30
ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES.....	32

1 INTRODUÇÃO COMPREENSIVA

O trato gastrointestinal (TGI) é um complexo ecossistema onde suas células, nutrientes provenientes da dieta e microrganismos colonizadores interagem, assegurando a homeostasia intestinal e um equilíbrio dinâmico que permite o desenvolvimento saudável do hospedeiro (CARDOSO, 2016). Os filos que colonizam o TGI humano e representam 98% da microbiota intestinal são: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria e Actinobacteria (LOPETUSO et al., 2014).

O TGI humano é um ecossistema dinâmico onde o hospedeiro interage com os microrganismos que o colonizam, numa relação de benefício mútuo, isto é, uma relação de simbiose. O TGI humano é estéril ao longo de toda a vida intrauterina, sendo colonizado pela primeira vez aquando do nascimento, por transmissão vertical de microrganismos vaginais e fecais de origem materna. (GRIMM; WESTERMANN; RIEDEL, 2014).

Nesta parceria o Homem fornece à microbiota, os nutrientes e todas as condições necessárias à sua sobrevivência e crescimento, retribuindo com o desempenho de funções fundamentais ao desenvolvimento e manutenção da saúde do hospedeiro. (ALMADA et al., 2015; BUTEL, 2014). O TGI humano é estéril ao longo de toda a vida intrauterina, sendo colonizado pela primeira vez aquando do nascimento, por transmissão vertical de microrganismos vaginais e fecais de origem materna. (GRIMM; WESTERMANN; RIEDEL, 2014).

A microbiota intestinal desempenha influência significativa tanto na saúde, quanto na doença. O desequilíbrio, conhecido por disbiose, pode ser ocasionado por fatores internos ou externos ao hospedeiro, incluindo o tipo de parto, a alimentação, o uso de antibióticos, de prebióticos e de probióticos, fatores genéticos, idade, estresse, entre outros. A disbiose pode ocasionar diversas doenças, entre elas a obesidade, constipação e depressão. Estudos (WANG et al., 2015; PARK et al, 2018) mostram que a modulação da microbiota com o uso de probióticos e prebióticos pode prevenir e até mesmo ser usado no tratamento dessas doenças. Percebe-se o grande papel que a microbiota intestinal possui na manutenção normal das funções do organismo, influenciando assim na prevenção ou surgimento de doenças. Dessa forma, existe uma necessidade de manter seu equilíbrio que pode ser por uma suplementação da dieta com probióticos e prebióticos (ARAÚJO; LIMA; FILHO; VASCONCELOS, 2019).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Este estudo tem por objetivo fazer uma revisão de literatura científica sobre as alterações que ocorrem na microbiota humana pelo uso de probióticos.

1.1.2 Objetivos específicos

- a) Realizar um levantamento bibliográfico em diferentes bancos de dados sobre as alterações que ocorrem na microbiota humana pelo uso probióticos.
- b) Identificar as principais cepas utilizadas como probióticos e quais alterações cada uma causa.
- c) Avaliar quais alterações benéficas podem ser observadas na microbiota através do consumo de probióticos.

2. ARTIGO CIENTÍFICO

ALTERAÇÕES DA MICROBIOTA PELO USO DE PROBIÓTICOS: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Luísa de Oliveira Jung ^{III}, Gertrudes Corção^{III}

[1] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

RESUMO

Probióticos são grupos de bactérias que têm potencial benéfico à saúde humana. A microbiota intestinal humana faz parte de um conjunto de células hospedeiras, bactérias, vírus (a maioria bacteriófagos) e algumas espécies de fungos encontrados no intestino humano. Dentre os papéis que a microbiota exerce está a imunomodulação, protegendo o organismo contra várias doenças. Além disso, a microbiota intestinal também exerce um papel importante na nutrição humana, no metabolismo e na imunidade. Existem indícios de que os probióticos são capazes de modular o sistema imune, influenciar as proteínas de junção estreita, diminuindo a permeabilidade intestinal, inibir a proliferação de microorganismos patogênicos e restabelecer a homeostase intestinal, além de ter influência na melhora de sintomas de

doenças ocasionadas por estresse oxidativo como artrite reumatóide, doenças cardíacas, doença de Parkinson e envelhecimento. Levando em consideração que os probióticos têm uma grande influência na restauração da saúde e equilíbrio da microbiota humana, é interessante entender o funcionamento e quais alterações ocorrem na microbiota quando estas cepas bacterianas são introduzidas. Este artigo aborda uma revisão sobre as espécies *Escherichia coli*, e de espécies pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, entre outras espécies bacterianas relevantes utilizadas como probióticos e as alterações que estas estimulam na microbiota humana.

Palavras-chave: Microbiota e Probióticos; Alterações da Microbiota pelo uso de probióticos; probióticos.

INTRODUÇÃO

TRATO GASTROINTESTINAL HUMANO

O trato gastrointestinal humano (TGI) abriga uma população complexa e dinâmica de microrganismos, a microbiota intestinal, que exercem uma influência marcante sobre o hospedeiro durante a homeostase e a doença. Múltiplos fatores contribuem para o estabelecimento da microbiota intestinal humana durante a infância. A dieta é considerada um dos principais fatores na formação da microbiota intestinal ao longo da vida. As bactérias intestinais desempenham um papel crucial na manutenção da homeostase imunológica e metabólica e na proteção contra patógenos. A composição bacteriana intestinal alterada (disbiose) tem sido associada à patogênese de muitas doenças inflamatórias e infecções. (Thursby; Juge, 2017).

MICROBIOTA INTESTINAL HUMANA

A microbiota humana pode ser definida como uma comunidade microbiana complexa que excede o número de células do hospedeiro (Marchesi; Ravel, 2017) e refere-se a toda a população de microrganismos que colonizam um determinado local; e inclui não apenas bactérias, mas também outros microrganismos, como fungos, arqueias, vírus e protozoários. (Jandhyala *et al.*, 2015). Os filos microbianos intestinais predominantes típicos de um ser humano saudável são Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria e Verrucomicrobia, com os dois filos Firmicutes e Bacteroidetes representando 90% da microbiota intestinal (Hillman *et al.*, 2017). O filo Firmicutes é composto por mais de 200

gêneros diferentes, como *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* e *Ruminococcus*. Os gêneros *Clostridium* representam 95% do filo Firmicutes, Bacteroidetes consistem em gêneros predominantes, como *Bacteroides* e *Prevotella*. O filo Actinobacteria é proporcionalmente menos abundante e representado principalmente pelo gênero *Bifidobacterium* (Białecka-Dębek *et al.*, 2021).

Acredita-se que o desenvolvimento da microbiota comece desde o nascimento, embora esse dogma seja desafiado por um número limitado de estudos nos quais micróbios foram detectados nos tecidos do útero, como a placenta (Aagaard *et al.*, 2014). Após o nascimento, o trato gastrointestinal é rapidamente colonizado, com eventos da vida, como doença, tratamento com antibióticos e alterações na dieta, causando mudanças caóticas na microbiota (Rodríguez *et al.*, 2015). O tipo de parto também parece afetar a composição da microbiota, com a microbiota de bebês nascidos por via vaginal contendo uma alta abundância de lactobacilos durante os primeiros dias, um reflexo da alta carga de lactobacilos na flora vaginal (Avershina *et al.*, 2014). Em contraste, a microbiota de bebês nascidos por cesariana encontram-se atrasadas na colonização do gênero *Bacteroides*, mas colonizada por anaeróbios facultativos, como a espécie *Clostridium* (Jakobsson *et al.*, 2014).

DISBIOSE

O desequilíbrio da microbiota pode levar a perda de efeitos imunes normais reguladores na mucosa do intestino, sendo associada a doenças inflamatórias e imuno-mediadas. Obter uma homeostase adequada durante o momento de colonização do TGI é um dos principais elementos para a modulação do sistema imune adequada e indução da tolerância imunológica. O não funcionamento desse sistema é a grande causa de doenças autoimunes ou atópicas (Satokari *et al.*, 2014; Francino, 2014).

As características primárias da disbiose da microbiota são a alteração das espécies bacterianas e o aumento das bactérias patogênicas (Fan *et al.*, 2021). Evidências sugerem que a disbiose da microbiota pode causar alteração das funções fisiológicas do hospedeiro e, assim, levar à patogênese de várias doenças (Tang; Hazen, 2014).

PROBIÓTICOS

Atualmente, existem evidências crescentes da capacidade de probióticos específicos de, por exemplo, modular o sistema imunológico, impactar em proteínas de junção estreita e

inibir a colonização de patógenos e os benefícios dos probióticos são dependentes da cepa. As evidências atuais apoiam uma ligação entre a atividade e a composição da microbiota intestinal e a saúde e a doença humana. Além disso, é provável que a composição da microbiota intestinal afeta muitos sistemas orgânicos, incluindo os sistemas cardiovascular, neural, imunológico e metabólico. A composição da microbiota intestinal é alterada em muitos estados de doença, como doenças cardiovasculares, câncer, malignidade, diabetes mellitus tipo 2, obesidade, colite, asma, distúrbios psiquiátricos, distúrbios inflamatórios, distúrbios do eixo intestino-cérebro e numerosos distúrbios imunológicos (Park *et al*, 2018; Barteneva *et al*, 2017; Saez *et al*, 2015; Tang *et al*, 2014).

MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado através de uma revisão de literatura nas bases de dados PubMed, SciELO, Google Scholar, Scopus e Web of Science em um período compreendido entre 2014 e 2022, dando preferência aos mais atuais. As palavras-chave utilizadas na pesquisa foram: Microbiota (microbiota), Probióticos (probiotics), Microbiota Alterada (altered microbiota). A escolha dos artigos foi realizada seguindo o critério de relevância acerca do tema. Foram adicionalmente feitas buscas nas referências dos artigos selecionados para ampliar o alcance da pesquisa.

Após todas as buscas em bases de dados, foram encontrados 2076 artigos compreendidos no período entre 2014 e 2022. No entanto, notou-se que os títulos de alguns artigos se repetiram e outros não abrangiam os critérios presentes nesta revisão. Do total de artigos encontrados, 88 foram escolhidos para leitura dos resumos por estarem relacionados com o tema deste trabalho e foram excluídos os artigos que não correspondiam ao propósito do presente estudo. Ao final, 64 artigos foram selecionados para leitura. Para a escrita deste trabalho foram utilizados 36 artigos.

PROPRIEDADES PROBIÓTICAS

Para que um microrganismo seja considerado probiótico é preciso que este tenha determinadas características. Dentre os aspectos necessários para esta classificação, segundo (Cardoso, 2016), estão:

- Comprovação dos benefícios para o hospedeiro;

- Deve ser reconhecido como genericamente seguro, não pode apresentar toxicidade ou patogenicidade ao hospedeiro quando ingeridos;
- Os organismos vivos devem ter a capacidade de atingir o cólon e colonizar o TGI. É preciso que o organismo seja capaz de resistir a ao ambiente ácido do estômago, aos sais biliares duodenais e atinja o local de ação em quantidade suficiente;
- As características e a estabilidade do probiótico devem ser mantidas quando incorporadas a matrizes (ex: leite, iogurte, *kefir*).

MECANISMOS DE AÇÃO

Barreira Epitelial Intestinal

Um dos mecanismos de ação dos probióticos diz respeito à melhoria da função de barreira da mucosa intestinal. Essa função de barreira está relacionada à qualidade das junções estreitas entre as células epiteliais intestinais. Outros elementos também participam dessa função de barreira, como células Paneth, produzindo peptídeos antimicrobianos (defensinas, lisozima), e células de muco, sendo que o muco atua como uma camada protetora que impede qualquer contato direto com bactérias do lúmen intestinal. Os probióticos podem, portanto, atuar no nível das vias de sinalização, levando ao aumento da camada de muco ou à produção de defensinas, bem como em proteínas de junções estreitas, melhorando sua função de barreira fisiológica (Butel, 2014).

Efeito antimicrobiano

Um dos primeiros modos de ação sugeridos é o efeito "barreira", também chamado de resistência à colonização, exercido contra bactérias patogênicas que impedem ou limitam sua colonização. A inibição bacteriana pode ser devida à produção de bacteriocinas de inibição de amplo espectro, a metabólitos como ácidos graxos de cadeia curta que induzem uma diminuição do pH pouco favorável ao crescimento bacteriano, ou a biossurfactantes com atividade antimicrobiana. Esse efeito de barreira também pode atuar através de vários mecanismos: competição por locais de ligação, inibição da adesão. (Butel, 2014).

Modulação do Sistema Imunológico

A microbiota intestinal modula o sistema imunológico através da produção de moléculas com funções imunomoduladoras e anti-inflamatórias capazes de estimular as

células imunes. Esses efeitos imunomoduladores são devidos à interação de bactérias probióticas com células epiteliais e CDs e com monócitos/macrófagos e linfócitos (D'amelio; Sassi, 2017). Um dos principais mecanismos de ação dos probióticos é a regulação da resposta imune do hospedeiro (Diaz *et al*, 2019). Os probióticos ajudam a preservar a homeostase intestinal, modulando a resposta imune e induzindo o desenvolvimento de T-regs (Giorgetti *et al.*, 2015).

Mais de 70% das células imunes estão localizadas no nível intestinal, especialmente no intestino delgado, que compõem o tecido linfóide associado ao intestino (GALT). (Giorgetti *et al.*, 2015). Placas de Peyer, locais específicos com um centro folicular e cobertos por células M associadas ao epitélio, são um verdadeiro portal de entrada para antígenos. A ativação da resposta imune requer o reconhecimento de receptores específicos de células da imunidade inata (células epiteliais, células dendríticas e macrófagos). Esses receptores chamados receptores de reconhecimento de padrões (PRR) incluem principalmente receptores Toll like (TLRs) e agentes de domínio de oligomerização de ligação a nucleotídeos (NODs). Eles são reconhecidos por alguns componentes estruturais repetidos na superfície de microrganismos chamados padrões moleculares associados microbianos (MAMPs), que interagem com o epitélio intestinal e estimulam as células do sistema imunológico intestinal no nível da lâmina própria. As consequências são a ativação de células T reguladoras e a diferenciação de linfócitos T auxiliares (Th), induzindo a produção de citocinas pró ou anti-inflamatórias (Gaboriau-Routhiau; Cerf-Bensussan, 2016). Bactérias com potencial probiótico, especialmente bactérias lácticas, podem ter efeitos diferentes, dependendo do perfil de citocinas. Os efeitos podem ser locais e limitados à estimulação da imunidade intestinal (estimulação da produção secretora de IgA, por exemplo) ou sistêmicos (Butel, 2014).

As cepas probióticas também podem ter efeitos benéficos diretamente, fornecendo enzimas como beta-galactosidase ou outras enzimas que melhoram os sintomas digestivos dos pacientes. Bactérias probióticas podem agir, seja qual for o seu modo de ação, através de suas estruturas, como DNA (especialmente pelos motivos CpG), peptidoglicano, LPS, flagelina; e/ou seus metabólitos (especialmente ácidos graxos de cadeia curta). Sua ação pode ser direta, relacionada à colonização digestiva, ou indireta, porque essas cepas modulam a microbiota, aumentando o inóculo de bactérias com efeitos benéficos (Butel, 2014).

PRINCIPAIS CEPAS PROBIÓTICAS

Escherichia coli

Escherichia coli é o organismo modelo procariótico mais frequentemente estudado na ciência e pertence às *Enterobacteriaceae* (família de bactérias Gram-negativas) compostas por bactérias comensais e patogênicas, é uma anaeróbia facultativa, maximizando seu crescimento no intestino (Wosinska *et al.*, 2019). Como outras espécies probióticas, *Escherichia coli*, é uma cepa probiótica bem conhecida com alguns efeitos benéficos na homeostase da microbiota intestinal. A cepa não patogênica *Escherichia coli* Nissle (EcN) é uma das cepas probióticas mais usadas na homeostase da microbiota intestinal. Foi demonstrado que a EcN pode estimular a produção de β -defensina 2 humana, o que pode proteger a barreira mucosa contra a adesão e invasão por comensais patogênicos (Liu *et al.*, 2017). Vários estudos *in vivo* e *in vitro* mostraram que EcN tem uma função protetora contra *Salmonella*, *Shigella*, *Candida*, e alguns outros comensais invasivos e podem restaurar o epitélio danificado pela modulação de proteínas de junção estreita e zônula de oclusão (Azad *et al.*, 2018).

As vesículas de membrana externa (OMVs) liberadas por bactérias gram-negativas desempenham um papel vital no processo de sinalização da mucosa intestinal. A liberação de OMVs inicia um mecanismo para entregar alguns compostos ativos e proteínas microbianas ao corpo do hospedeiro sem contato intercelular. Recentemente foi demonstrado em estudo em camundongos que as OMVs desencadeiam as respostas imunes e de defesa do hospedeiro da cepa probiótica EcN, que entrou nas células intestinais via endocitose mediada por clatrina. De fato, estudos *in vitro* e *ex vivo* demonstraram a expressão de peptídeos antimicrobianos e modulação da resposta de citocinas/quimiocinas de células epiteliais e imunes intestinais quando a cepa probiótica EcN induziu OMVs. Além disso, essas OMVs promovem a regulação positiva das proteínas de junção estreita de zônula ocludente e claudina-14 (Cañas *et al.*, 2016). A cepa probiótica EcN também está envolvida na resposta imune da microbiota intestinal, incluindo macrófagos, células epiteliais, células dendríticas e regulação positiva de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-8 e IL-1 β) (Azad *et al.*, 2018).

Lactobacillus

As espécies de *Lactobacillus* são bactérias Gram-positivas pertencentes ao grupo das bactérias do ácido láctico, capazes de metabolizar a fermentação do ácido láctico. Os *Lactobacillus* geralmente são resistentes aos sais biliares, sendo esta uma característica

probiótica muito relevante, pois permite que o probiótico sobreviva no ambiente ácido hostil do trato gastrointestinal. São frequentemente encontrados em vários alimentos fermentados, silagem, intestino humano e vagina e estão entre os probióticos mais amplamente utilizados e caracterizados até o momento (Wosinska *et al.*, 2019).

A permeabilidade intestinal pode ser alcançada com um aumento na proteína de junção estreita intestinal ocludina. Após uma mudança na composição da microbiota intestinal com um probiótico, os camundongos com uma dieta rica em gordura mostraram um aumento na expressão da proteína de junção estreita, mRNA de proglucagon e redução da expressão intestinal dos receptores de reconhecimento de padrões CD-14 e NOD1 (Bagarolli *et al.*, 2017; Azad *et al.*, 2018).

Várias cepas da espécie *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus acidophilus* têm sido consideradas importantes probióticos, cada cepa exibindo funções individuais. *Lactobacillus* são capazes de inibir patógenos entéricos através da produção de ácido láctico, bacteriocinas e peróxido de hidrogênio. Vale ressaltar que os *Lactobacillus* são formadores de matriz de biofilme, o que torna a bactéria mais resistente aos antibióticos, podendo potencialmente permitir a longevidade da bactéria no intestino (Wosinska *et al.*, 2019).

Bifidobacterium

Bifidobacterium são bactérias anaeróbicas Gram-positivas do filo Actinobacteria. As cepas deste gênero estão associadas aos primeiros colonizadores do intestino de bebês e têm um papel importante na maturação do seu sistema imunológico. Em geral, o gênero *Bifidobacterium* são resistentes aos ácidos biliares e representam uma grande proporção do microbioma bacteriano obtido a partir de amostras fecais infantis, em média cerca de 60% a 91% presentes em bebês amamentados, mas as proporções diminuem muito mais tarde na vida (Wosinska *et al.*, 2019).

O gênero é representado por muitas cepas diferentes às quais foram atribuídas propriedades probióticas. Uma mistura de *B. breve*, *B. longum* e *Bifidobacterium infantis* foi associada ao tratamento de diarreia associada a antibióticos, enquanto duas cepas de *Bifidobacterium* : *B. breve* cepa Yakult e *B. bifidum* cepa Yakult demonstraram por estudos *in vitro* que têm um possível papel na modulação do sistema imunológico (Wosinska *et al.*, 2019).

Assim como os *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* são potenciais inibidores de bactérias nocivas, podem melhorar a função da barreira gastrointestinal e suprimir citocinas pró-inflamatórias. Estudos recentes demonstraram que *Bifidobacterium* altera a função das células dendríticas para regular a homeostase imune intestinal a antígenos e bactérias inofensivas ou iniciar medidas de proteção contra patógenos (Srutkova *et al.*, 2015). Também tem o potencial de controlar várias doenças intestinais, como Doença Inflamatória Intestinal, câncer e alergias. O probiótico *Bifidobacterium* mostrou capacidade metabólica em bactérias intestinais e pode aumentar a proporção de bactérias benéficas na microbiota intestinal por alimentação cruzada (Azad *et al.*, 2018).

Em um estudo realizado em 2015 por Turrone *et al.*, *Bifidobacterium bifidum* aumentou significativamente a atividade metabólica quando co-cultivado com *Bifidobacterium breve*. Esta co-cultura de bactérias probióticas afetou a mudança metabólica na microbiota intestinal, aumentando a produção de ácidos graxos de cadeia curta, em vez de alterar a composição da microbiota intestinal (Turrone *et al.*, 2015).

Além disso, Savignac *et al.* encontraram indícios de que *Bifidobacterium* exerce um efeito positivo através da sinalização hormonal no eixo do microbioma intestino-cérebro para melhorar a função da memória, incluindo a expressão do fator neurotrópico derivado do cérebro e do receptor N-metil-D-aspartato. Benefícios potenciais atribuídos a cepas específicas dos gêneros probióticos *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Escherichia coli* são fornecidos na Tabela 1.

Tabela 1 - Gêneros Probióticos e seus benefícios

Gênero Probiótico	Localização no Corpo	Benefícios atribuídos
<i>Lactobacillus</i>	Cólon, intestino e vagina.	Resistente à bile, melhora da gastroenterite, alívio da intolerância à lactose, modulação do sistema imunológico, prevenção da colonização de patógenos, redução do colesterol.
<i>Bifidobacterium</i>	Cólon, cavidade oral, leite materno e vagina.	Resistente à bile, alívio da intolerância à lactose, modulação do sistema imunológico, redução do colesterol.

<i>Escherichia coli</i>	Cólon	Propriedades antagônicas contra uma variedade de patógenos, produção de defensina, modificação da proteína de junção estreita, distúrbio do intestino irritável, constipação, propriedades pró-inflamatórias
-------------------------	-------	--

Adaptado de Wosinska *et al.*, 2019.

ALTERAÇÕES NA MICROBIOTA

A alimentação probiótica com uma dieta rica em gordura mostrou alteração da composição da microbiota intestinal com diminuição das bactérias gram-positivas filos Firmicutes e Actinobacteria em camundongos. Em contraste, em um modelo de rato de hiperlipidemia, a administração de probióticos de *Lactobacillus* levou a mudanças significativas na composição da microbiota, incluindo um aumento da abundância de Bacteroidetes e Verrucomicrobia e uma proporção reduzida de Firmicutes (GU *et al.*, 2014). É evidente que as espécies probióticas desempenham papéis importantes na manutenção do ecossistema da microbiota intestinal em humanos e animais. (Azad *et al.*, 2018).

Em relação aos efeitos da microbiota na permeabilidade intestinal, a maioria dos estudos mostra que o uso de probióticos pode reverter o aumento da permeabilidade intestinal em diversos contextos, seja em modelos de lesão da barreira induzida por estresse ou por deleção de genes de receptores do tipo Toll (Rodrigues *et al.*, 2016). Animais criados em ambientes estéreis também tem sua permeabilidade intestinal diferencialmente modulada por populações bacterianas. Estudos sugerem que uma microbiota mais diversa possa contribuir para manutenção da homeostase intestinal. Em modelo experimental de enteropatia ambiental em camundongos, a modulação da microbiota exacerbou os distúrbios na barreira intestinal, com aumento da permeabilidade intestinal e da expressão de claudina-2. (Rodrigues *et al.*, 2016).

Ghyselinck *et al.* (2021) avaliaram em modelo *in-vitro* a influência de bactérias probióticas na composição da microbiota e na função da parede intestinal em pacientes com Doença de Parkinson (DP), encontrou mudanças significativas na composição bacteriana.

Apesar de os dados cobrirem apenas um período de 48 horas, foi possível detectar mudanças relevantes. Considerando os indivíduos saudáveis primeiro, os níveis de *Firmicutes*, *Actinobactérias* e *Bacteroidetes* foram aumentados. Duas das bactérias do Symprove (*L. plantarum* e *L. rhamnosus*) foram significativamente enriquecidas nos compartimentos luminais de todos os três doadores e nos compartimentos mucosas de dois dos doadores, contribuindo para o aumento do nível de *Firmicutes*. Outros contribuintes para o aumento de *Firmicutes* incluíram *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Selenomonadaceae*, *Streptococcaceae* e *Veillonellaceae*. A proporção de *Actinobacteria* aumentou, principalmente pelo enriquecimento de *Bifidobacteriaceae* no lúmen de todos os doadores. As *Coriobacteriaceae* foram enriquecidas nos compartimentos luminais de dois doadores, enquanto As *Eggerthellaceae* foram enriquecidas no outro doador. A proporção de *Bacteroidetes* também foi aumentada, enriquecida por *B. uniformis* e *Rikenellaceae* no lúmen do doador 2. *Tannerellaceae* (principalmente *Parabacteroides distasonis*) foi enriquecida nos compartimentos luminais dos doadores 2 e 3 e no muco do doador 1. A proporção de proteínas diminuiu, principalmente através de uma menor abundância de *Escherichia coli* entre os três doadores (embora se note que pode não ter havido uma redução absoluta no número de *Proteobactérias*, porque a redução na proporção pode ser causada pelo crescimento nos outros filos). Nos pacientes com DP, as proporções de *Actinobactérias* e *Firmicutes* foram aumentadas. O enriquecimento de *Firmicutes* no lúmen de todos os doadores e a camada de muco dos doadores 1 e 2 refletiram em parte a integração e proliferação de *L. plantarum* e *L. rhamnosus* da Symprove, mas teve contribuições de outras famílias, em particular *Eubacteriaceae*, *Lachnospiraceae*, *Streptococcaceae* e *Veillonellaceae* no lúmen e *Erysipelotrichaceae*, *Lachnospiraceae* e *Veillonellaceae* no muco. A estimulação de *Bifidobacteriaceae* (em particular *Bifidobacterium longum*) foi responsável pela elevação dos níveis de *Actinobactérias* (Ghyselinck *et al*, 2021).

Os probióticos melhoram a resposta imune celular inespecífica por meio da ativação de células natural *killer* e macrófagos e a liberação de várias citocinas. Eles também podem melhorar o sistema imunológico da mucosa intestinal, aumentando o número de IgA(+) nas células. Além disso, os probióticos podem auxiliar o processo de digestão e a quebra de lactose, melhorar a absorção de minerais e aumentar a síntese de muitas vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantotênico, vitamina K). Eles desempenham um papel importante no tratamento de várias doenças, como doença hepática, diarreia e gastroenterite. Também

demonstraram ter propriedades antiproliferativas, pró-apoptóticas e antioxidantes. (Nowak; Paliwoda; Błasiak, 2018).

Gómez-Guzmán e colegas sugeriram que os probióticos *Lactobacillus fermentum* CECT5716, *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 (K8) e *Lactobacillus gasseri* CECT5714 (LC9) (1:1) são capazes de diminuir a atividade de NOX (NADPH oxidase) e a expressão de mRNA de NOX-1 e NOX-4 em ratos espontaneamente hipertensos (Gómez-Guzmán *et al.*, 2015).

A ciclo-oxigenase (COX) é uma enzima limitante de taxa na biossíntese de prostaglandinas e um processo enzimático de duas etapas no qual as espécies reativas de oxigênio são geradas. A COX-2 é regulada positivamente em lesões ateroscleróticas e catalisa a produção da maioria dos prostanóides vasculares em áreas ateroscleróticas humanas (Gómez-Guzmán *et al.*, 2015). Patel e colegas demonstraram que o pré-tratamento com *Lactobacillus acidophilus* diminuiu a expressão de COX-2 em macrófagos de timo de catla em comparação com *Aeromonas hydrophila* e macrófagos co-estimulados (Patel *et al.*, 2016).

Van Best *et al.* (2020) avaliaram em um estudo com bebês prematuros a influência da suplementação probiótica no desenvolvimento da microbiota em neonatos prematuros com idade gestacional <32 semanas entre janeiro de 2016 e 2018. Inicialmente, desde o nascimento até às 36 semanas de idade gestacional, os bebês recebiam diariamente um regime de leite suplementado (Infloran, 250 mg/dia) como procedimento padrão (grupo P1). O probiótico Infloran continha as bactérias *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356) e *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* (ATCC 15697) em uma proporção de 1:1 (cada cepa a 109 UFC/250 mg). (Van Best *et al.*, 2020) Esta suplementação padrão com bactérias probióticas teve que ser temporariamente suspensa devido à indisponibilidade deste probiótico no mercado. Durante esse período entre maio e dezembro de 2016, os recém-nascidos prematuros só receberam leite sem suplemento probiótico (grupo controle). Após dezembro de 2016, a administração de probióticos a todos os neonatos prematuros (<36 semanas) foi reinstalada com outro suplemento probiótico (Darmflora Plus, 250 mg/dia) contendo *Lactobacillus acidophilus* La-14 (ATCC SD5215), *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* BI-05 (ATCC SD5588), *Lactobacillus casei* Lc-11 (ATCC SD5213) e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (grupo P2) com números iguais para todas as quatro cepas (cada cepa a 109 UFC/250 mg). (Oniszczyk *et al.*, 2021).

Foram observadas diferenças significativas na composição microbiana entre o grupo controle e ambos os grupos probióticos no momento da suplementação probiótica. Os neonatos que receberam suplementação probiótica apresentaram uma composição de microbiota mais homogênea em comparação com os bebês do grupo controle. (Van Best *et al.*, 2020).

Posteriormente, foi avaliado como a administração de probióticos influencia táxons bacterianos endógenos específicos ao longo do tempo. *Klebsiella*, *Escherichia*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* e *Enterobacter* representaram os principais gêneros que conduziram a separação na estrutura da comunidade microbiana entre os três grupos. O aumento da abundância de *Klebsiella* foi tipicamente encontrado em neonatos sem suplementação probiótica. Em contraste, os neonatos que receberam a suplementação probiótica 2 foram caracterizados por maior abundância de *Enterobacter* e menor abundância de *Escherichia*. O aumento do número relativo de *Bifidobacterium* e *Enterococcus* foi mais comumente observado entre os neonatos que receberam suplementação probiótica 1 (Van Best *et al.*, 2020; Oniszczyk *et al.*, 2021).

Além disso, as mudanças taxonômicas desses cinco gêneros ao longo do tempo indicaram que a suplementação probiótica reduziu as flutuações temporais na composição da microbiota. Enquanto a abundância de *Enterococcus*, *Escherichia* e *Klebsiella* foi altamente dinâmica no grupo controle, um padrão mais estável pôde ser observado em neonatos suplementados por probióticos. Esse padrão mais estável foi acompanhado por uma expansão do gênero *Bifidobacterium* no grupo P1 e uma expansão do gênero *Enterobacter* no grupo P2 (Van Best *et al.*, 2020; Oniszczyk *et al.*, 2021).

Por fim, a análise discriminante linear revelou que o *Bifidobacterium* foi o gênero mais enriquecido entre os neonatos que receberam P1 em todos os momentos, enquanto os lactobacilos foram enriquecidos apenas significativamente no início da suplementação. Além disso, após a suplementação probiótica, os neonatos abrigaram menos *Klebsiella* e dois membros da ordem Clostridiales quando comparados aos neonatos controle. Embora o segundo probiótico semelhante ao P1 tenha sido associado a uma maior abundância de bifidobactérias e diminuição dos níveis de *Klebsiella* ao final da suplementação, esses neonatos poderiam ser mais profundamente diferenciados do grupo controle por uma maior abundância de *Enterobacter* em todos os momentos. Ademais, em ambos os grupos

probióticos, a abundância de espécies bifidobacterianas diferentes das incluídas nas fórmulas probióticas foi aumentada quando comparada aos neonatos controle (Van Best *et al.*, 2020; Oniszczyk *et al.*, 2021).

Os perfis da microbiota diferiram significativamente entre o grupo controle e ambos os grupos probióticos. A suplementação probiótica foi associada a menor variação temporal, bem como maior abundância relativa de *Bifidobacterium* e *Enterobacter* combinada com menor abundância de *Escherichia*, *Enterococcus* e *Klebsiella*. A colonização por bifidobactérias probióticas foi observada em aproximadamente 50% dos bebês, embora tenha permanecido transitória na maioria dos casos. Uma incidência mensal significativamente reduzida de Enterocolite Necrosante foi observada em neonatos suplementados com probióticos. Como a administração de probióticos foi associada a uma diminuição da abundância de *Enterococcus*, *Escherichia* e *Klebsiella* em bebês prematuros, os probióticos também podem reduzir a prevalência de cepas resistentes a antibióticos. A presença de cepas resistentes dificulta significativamente uma terapia antimicrobiana eficaz em caso de infecção (Van Best *et al.*, 2020; Oniszczyk *et al.*, 2021).

CONCLUSÃO

Recentemente observou-se um aumento significativo no número de pesquisas e publicações envolvendo a utilização de probióticos. A presente revisão da literatura possibilitou o reconhecimento dos principais micro-organismos que vêm sendo estudados e utilizados como probióticos e as alterações que as principais cepas promovem na microbiota intestinal humana. Os principais achados estão relacionados com a capacidade de algumas espécies serem capazes de regular a imunomodulação aumentando a atividade de macrófagos ou células natural killer, modulando a secreção de imunoglobulinas e citocinas, ou indiretamente aumentando a barreira epitelial intestinal, alterando a secreção de muco. Além disso, cepas específicas influenciam na modulação da expressão de proteínas constituintes das junções estreitas.

A microbiota, quando em disbiose, pode sofrer alterações desfavoráveis, sendo a causa principal ou uma das causas de diversas doenças, como a obesidade, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares, doenças gastrointestinais, alguns tipos de câncer, doenças autoimunes e doenças hepáticas. O uso de probióticos demonstra que o equilíbrio na microbiota intestinal é restabelecido, através do aumento da população de bactérias,

modulando a função de barreira do epitélio intestinal e na produção de citocinas. Além disso, diversos estudos atuais mostram evidências de alterações benéficas no ser humano, seja pelo seu potencial antioxidante, seja pela inibição bacteriana devida à produção de bacteriocinas, seja pela melhoria da função de barreira da mucosa intestinal ou pela modulação da resposta imune.

A identificação de bactérias probióticas benéficas à microbiota intestinal humana e seus mecanismos de ação auxiliou a entender as alterações que ocorrem quando diferentes tipos de bactérias estão presentes no intestino e como estes grupos atuam auxiliando positivamente o ambiente em que se encontram. A partir da revisão bibliográfica realizada, foi possível compreender as alterações causadas na microbiota pelo uso de probióticos.

REFERÊNCIAS

1. Aagaard, K., Ma, J., Antony, K.M., Ganu, R., Petrosino, J., Versalovic, J. (2014) The placenta harbors a unique microbiome. *Sci. Transl. Med.* 6, 237ra65 doi:<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008599>
2. Avershina, E., Storrø, O., Øien, T., Johnsen, R., *et al.* (2014) Major faecal microbiota shifts in composition and diversity with age in a geographically restricted cohort of mothers and their children. *FEMS Microbiol. Ecol.* 87, 280–290 doi: <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12223>.
3. Azad, M., Sarker, M., Li, T., & Yin, J. (2018). Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota: An Overview. *BioMed research international*, 2018, 9478630. <https://doi.org/10.1155/2018/9478630>.
4. Bagarolli R. A., Tobar N., Oliveira A. G., *et al.* Probiotics modulate gut microbiota and improve insulin sensitivity in DIO mice. 2017;50:16–25. doi: 10.1016/j.jnutbio.2017.08.006.
5. Barteneva NS, Baiken Y, Fasler-Kan E, Alibek K, Wang S, Maltsev N, Ponomarev ED, Sautbayeva Z, Kauanova S, Moore A, Beglinger C, Vorobjev IA. Extracellular vesicles in gastrointestinal cancer in conjunction with microbiota: On the border of Kingdoms. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2017 Dec;1868(2):372-393. doi: 10.1016/j.bbcan.2017.06.005.

6. Bialecka-Dębek, A.; Granda, D.; Szmidt, M.K.; Zielińska, D. Gut Microbiota, Probiotic Interventions, and Cognitive Function in the Elderly: A Review of Current Knowledge. *Nutrients* 2021, *13*, 2514. <https://doi.org/10.3390/nu13082514>.
7. Butel; M.-J. Probiotics, gut microbiota and health. *Médecine et Maladies Infectieuses*, v.44, i.1, 2014, p.1-8, ISSN 0399-077X, <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2013.10.002>.
8. Cañas, M.; Giménez, R.; Fábrega, Mj.; Toloza, L.; *et al.* Outer Membrane Vesicles from the Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 and the Commensal ECOR12 Enter Intestinal Epithelial Cells via Clathrin-Dependent Endocytosis and Elicit Differential Effects on DNA Damage. *PLoS One*. 2016 Aug 3;11(8):e0160374. doi: 10.1371/journal.pone.0160374.
9. Cardoso, DS. Microbiota, Probióticos e Saúde [dissertação]. Faculdade De Medicina Da Universidade De Coimbra; 2016.
10. D'Amelio, P., Sassi, F. Gut Microbiota, Immune System, and Bone. *Calcif Tissue Int* 102, 415–425 (2018). <https://doi.org/10.1007/s00223-017-0331-y>
11. Fan X, Jin Y, Chen G, Ma X, Zhang L: Gut Microbiota Dysbiosis Drives the Development of Colorectal Cancer. *Digestion* 2021;102:508-515. doi: 10.1159/000508328.
12. Francino, M. P. Early development of the gut microbiota and immune health. *Pathogens*, Basel, v. 3, n. 3, p. 769- 790, set. 2014. doi: 10.3390/pathogens3030769.
13. Gaboriau-Routhiau, V.; Cerf-Bensussan, N. Microbiote intestinale et développement du système immunitaire [Gut microbiota and development of the immune system]. *Med Sci (Paris)*. 2016 Nov;32(11):961-967. French. doi: 10.1051/medsci/20163211011.
14. Ghyselinck, J.; Verstrepen, L.; Moens, F.; Van Den Abbeele, P.; *et al.*, Influence of probiotic bacteria on gut microbiota composition and gut wall function in an in-vitro model in patients with Parkinson's disease, *International Journal of Pharmaceutics*: X, Volume 3, 2021, 100087, ISSN 2590-1567, <https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2021.100087>.
15. Giorgetti, G., Brandimarte, G., Fabiocchi, F., Ricci, S., Flamini, P., Sandri, G., *et al.* (2015). Interactions between Innate Immunity, Microbiota, and Probiotics. *Journal of immunology research*, 2015, 501361. <https://doi.org/10.1155/2015/501361>.
16. Gómez-Guzmán M., Toral M., Romero M., Jimenez R., *et al.* Antihypertensive effects of probiotics *Lactobacillus* strains in spontaneously hypertensive rats. *Mol. Nutr. Food Res.* 2015; 59:2326–2336. doi: 10.1002/mnfr.201500290.

17. Hillman, E.; Lu H., Yao, T.; Nakatsu, C. Microbial Ecology along the Gastrointestinal Tract, *Microbes and Environments*, 2017, Volume 32, Issue 4, Pages 300-313, Released on J-STAGE December 27, 2017, Advance online publication November 10, 2017, Online ISSN 1347-4405, Print ISSN 1342-6311, <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME17017>.
18. Jakobsson, H.E., Abrahamsson, T.R., Jenmalm, M.C., Harris, K., Quince, C., Jernberg, C. *et al* (2014) Decreased gut microbiota diversity, delayed Bacteroidetes colonization and reduced Th1 responses in infants delivered by caesarean section. *Gut* 63, 559–566 doi:<https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-303249>.
19. Jandhyala, Sm.; Talukdar, R.; Subramanyam, C.; Vuyyuru, H.; Sasikala, M.; *et al*. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015 Aug 7;21(29):8787-803. doi: 10.3748/wjg.v21.i29.8787.
20. Liu, G., Ren, W., Fang, J. *et al*. L-Glutamine and L-arginine protect against enterotoxigenic *Escherichia coli* infection via intestinal innate immunity in mice. *Amino Acids* 49, 1945–1954 (2017). <https://doi.org/10.1007/s00726-017-2410-9>.
21. Marchesi Jr, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*. 2015 Jul 30;3:31. doi: 10.1186/s40168-015-0094-5.
22. Nowak, A.; Paliwoda, A.; Błasiak, J. (2019) Anti-proliferative, pro-apoptotic and anti-oxidative activity of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains: A review of mechanisms and therapeutic perspectives, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59:21, 3456-3467, DOI: 10.1080/10408398.2018.1494539
23. Oniszczuk, A.; Oniszczuk, T.; Gancarz, M.; Szymańska, J. Role of Gut Microbiota, Probiotics and Prebiotics in the Cardiovascular Diseases. *Molecules* 2021, 26, 1172. <https://doi.org/10.3390/molecules26041172>.
24. Park, Js. *et al.*, “Lactobacillus acidophilus improves intestinal inflammation in an acute colitis mouse model by regulation of Th17 and Treg cell balance and fibrosis development,” *Journal of Medicinal Food*, 2018.
25. Patel, B.; Kumar P.; Banerjee R.; Basu, M. *et al*. *Lactobacillus acidophilus* attenuates *Aeromonas hydrophila* induced cytotoxicity in catla thymus macrophages by modulating oxidative stress and inflammation. *Mol. Immunol.* 2016;75:69–83. doi: 10.1016/j.molimm.2016.05.012.
26. Rodrigues *et al.*, Sistema digestório: integração básico-clínica. São Paulo, Edgar Blutcher Ltda, 2016.

27. Rodríguez, Jm.; Murphy K.; Stanton, C.; *et al.* The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb Ecol Health Dis.* 2015 Feb 2;26:26050. doi: 10.3402/mehd.v26.26050.
28. Saez-Lara, M. J., Gomez-Llorente, C., Plaza-Diaz, J., & Gil, A. (2015). The role of probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria in the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and other related diseases: a systematic review of randomized human clinical trials. *BioMed research international*, 2015, 505878. <https://doi.org/10.1155/2015/505878>.
29. Satokari R, Fuentes S, Mattila E, Jalanka J, de Vos WM, Arkkila P. Fecal transplantation treatment of antibiotic-induced, noninfectious colitis and long-term microbiota follow-up. *Case Rep Med.* 2014;2014:913867. doi: 10.1155/2014/913867.
30. Srutkova, Dagmar, et al. "Bifidobacterium longum CCM 7952 promotes epithelial barrier function and prevents acute DSS-induced colitis in strictly strain-specific manner." *PloS one* 10.7 (2015): e0134050. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134050>.
31. Tang, Wh.; Hazen, Sl. The contributory role of gut microbiota in cardiovascular disease. *J Clin Invest.* 2014;124(10):4204–11. <https://doi.org/10.1172/JCI72331>.
32. Thursby, E.; Juge, N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J* 1, June 2017; 474 (11): 1823–1836. doi: <https://doi.org/10.1042/BCJ20160510>.
33. Turrone, F.; Özcan, E., Milani C., *et al.* Glycan cross-feeding activities between bifidobacteria under in vitro conditions. 2015;6 doi: 10.3389/fmicb.2015.01030.01030.
34. Van Best, N.; Trepels-Kottek, S.; Savelkoul, P.; *et al.* (2020). Influence of probiotic supplementation on the developing microbiota in human preterm neonates, *Gut Microbes*,12:1, DOI: 10.1080/19490976.2020.1826747.
35. Wosinska, L., Cotter, P. D., O'sullivan, O., & Guinane, C. (2019). The Potential Impact of Probiotics on the Gut Microbiome of Athletes. *Nutrients*, 11(10), 2270. <https://doi.org/10.3390/nu11102270>.

3 CONCLUSÃO

Através do estudo bibliográfico realizado neste trabalho foi possível entender os mecanismos de ação dos probióticos, suas cepas mais utilizadas e como alteram a microbiota humana. O presente estudo identificou alterações relacionadas principalmente à modulação

da microbiota intestinal e o sistema de defesa contra patógenos. O interesse em pesquisa sobre probióticos vem crescendo significativamente nos últimos anos, tornando este estudo útil para pesquisas futuras.

REFERÊNCIAS

ALMADA, C.N., NUNES DE ALMADA, C., MARTINEZ, R.C.R. *et al.* Characterization of the intestinal microbiota and its interaction with probiotics and health impacts. **Appl Microbiol Biotechnol**, 99, 4175–4199, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6582-5>. Acesso em: 08 abr. 2022.

ARAÚJO, Débora *et al.* Alteração da Microbiota Intestinal e Patologias Associadas: Importância do uso de Prebióticos e Probióticos no Seu Equilíbrio. **Temas em Saúde**, Volume 19, Número 6 ISSN 2447-2131 João Pessoa, 2019. Disponível em: <https://temasemsaude.com/wp-content/uploads/2020/01/19602.pdf>. Acesso em: 13 mar. 2022.

ASHA, MZ.; KHALIL, SFH. Efficacy and Safety of Probiotics, Prebiotics and Synbiotics in the Treatment of Irritable Bowel Syndrome: A systematic review and meta-analysis. **Sultan Qaboos Univ Med J**. Feb. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.18295/squmj.2020.20.01.003>. Acesso em: 05 abr. 2022.

DIMIDI E.; CHRISTODOULIDES, S.; SCOTT, SM.; WHELAN, K. Mechanisms of Action of Probiotics and the Gastrointestinal Microbiota on Gut Motility and Constipation. **Adv Nutr**. 2017 May 15;8(3):484-494. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/an.116.014407>. Acesso em: 12 abr. 2022.

FERRARESE R, CERESOLA ER, PRETI A, CANDUCCI F. Probiotics, prebiotics and synbiotics for weight loss and metabolic syndrome in the microbiome era. **Eur Rev Med Pharmacol Sci**. 2018 Nov;22(21):7588-7605. Disponível em: https://doi.org/10.26355/eurrev_201811_16301. Acesso em: 11 abr. 2022.

FIJAN, Sabina. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. **International journal of environmental research and public health**, vol. 11,5 4745-67. 5 May. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>. Acesso em: 05 abr. 2022.

GAWLIK-KOTELNICKA, O.; *et al.* The Influence of Probiotic Supplementation on Depressive Symptoms, Inflammation, and Oxidative Stress Parameters and Fecal Microbiota in Patients with Depression Depending on Metabolic Syndrome Comorbidity—PRO-DEMET Randomized Study Protocol. **J. Clin. Med**. 2021, 10, 1342. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jcm10071342>. Acesso em: 07 abr. 2022.

GRIMM, V.; WESTERMANN, C.; RIEDEL, CU. Bifidobacteria host interactions an update on colonization factors. **Biomed Res Int**. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2014/960826>. Acesso em: 12 abr. 2022.

GU R., YANG Z., CHEN X., *et al.* The effect of *Lactobacillus rhamnosus* hsryfm 1301 on the intestinal microbiota of a hyperlipidemic rat model. **BMC Complementary and**

- Alternative Medicine**. 2014; p. 386. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-386>. Acesso em: 29 mar. 2022.
- KRISTENSEN, N.B., BRYRUP, T., ALLIN, K.H. *et al.* Alterations in fecal microbiota composition by probiotic supplementation in healthy adults: a systematic review of randomized controlled trials. **Genome Med**, 8, 52 (2016). Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0300-5>. Acesso em: 28 mar. 2022.
- LOPETUSO, LR.; SCALDAFERRI, F.; FRANCESCHI, F.; GASBARRINI, A. The gastrointestinal microbiome - functional interference between stomach and intestine. **Best Pract Res Clin Gastroenterol**. 2014 Dec;28(6):995-1002. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2014.10.004>. Acesso em: 31 mar. 2022.
- LÓPEZ-MORENO A, AGUILERA M. Probiotics Dietary Supplementation for Modulating Endocrine and Fertility Microbiota Dysbiosis. **Nutrients**. 2020 Mar 13;12(3):757. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu12030757>. Acesso em: 02 abr. 2022.
- MA, Teng; YANG, Ni; SUN, Zhihong; ZHANG, Heping. Probiotics: A new target for metabolic disease regulation. **Chinese Science Bulletin**. 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1360/TB-2021-0175>. Acesso em: 11 abr. 2022.
- WANG, W., XU, S., REN, Z. *et al.* Gut microbiota and allogeneic transplantation. **J Transl Med**, 13, 275 (2015). Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0640-8>. Acesso em: 28 mar. 2022.
- WIEËRS, Grégoire. *et al.* How Probiotics Affect the Microbiota. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Vol. 9, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00454>. Acesso em: 02 abr. 2022.
- ZHANG, XF. *et al.* Clinical effects and gut microbiota changes of using probiotics, prebiotics or synbiotics in inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. **Eur J Nutr** 60, 2855–2875 (2021). Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00394-021-02503-5>. Acesso em: 31 mar. 2022.

ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES

Review Article

A review article should provide a synthetic and critical analysis of a relevant area and should not be merely a chronological description of the literature. A review article by investigators who have made substantial contributions to a specific area of Pharmaceutical Sciences will be published by invitation of the Editors. However, an outline of a review article may be submitted to the Editors without prior consultation. If it is judged appropriate for the Journal, the author(s) will be invited to prepare the article for peer review. The manuscript should contain:

- abstract of no more than 250 words
- no more than 6 key words
- a running title to be used as a page heading, which should not exceed 60 letters and spaces
- manuscript main body divided into sections with appropriate titles and subtitles
- no more than 90 references (without exceptions)

Text format

- The text of a manuscript can only be accepted as a Microsoft Word file created with MS Word as a ".doc", ".docx" or ".rtf" document.
- Manuscripts should be sent in 30-36 lines, 1,5 spaced,
- Each page should contain the page number in the upper right-hand corner starting with the title page as page 1.
- Report all measurements in Système International, SI (<http://physics.nist.gov/cuu/Units>) and standard units where applicable
- Names of plants, animals and chemicals should be mentioned according to International Rules available.
- Names of drugs can follow the International rules (DCI) or current Brazilian rules (DCB)
- Trademarks may be mentioned only once in the text (between parenthesis and initial in capital letter)
- Do not use abbreviations in the title and limit their use in the abstract and text.
- The length of the manuscript and the number of tables and figures must be kept to a minimum.
- Ensure that all references are cited in the text.
- Generic names must be used for all drugs. Instruments may be referred to by proprietary name; the name and country of the manufacturer should be given in parenthesis.

Organization of the Manuscript

Most articles published in BJPS will be organized into the following sections:

Title, Authors, Abstract, Key words, Running Title, Author for Correspondence and email address

Introduction

Material and Methods

Results and Discussion

Acknowledgments

References

Tables with a descriptive title and footnote legends

Figures with a descriptive title, descriptive legends and uniformity in format

Continuous page numbers are required for all pages including figures. There are no specific length restrictions for the overall manuscript or individual sections. However, we urge authors to present and discuss their findings concisely. We recognize that some articles will not be best presented in our research article format. If you have a manuscript that would benefit from a different format, please contact the editors to discuss this further.

Title Page

Title - The title should be as short and informative as possible, should not contain non-standard acronyms or abbreviations, and should not exceed two printed lines.

Examples:

Freeze-drying of ampicillin solid lipid nanoparticles using mannitol as cryoprotectant

A fully validated microbiological assay for daptomycin injection and comparison to HPLC method

Pharmacokinetics, safety and tolerability of L-3-n-butylphthalide tablet after single and multiple oral administrations in healthy Chinese volunteers.

Authors and Affiliations

Full name (matched with superscript numbers identifying affiliation). Institution(s) (Department, Faculty, University, City, State, Country) of each author (in English).

Examples:

Hongmei Xia¹ * , Yongfeng Cheng² , Yinxiang Xu³ , Zhiqing Cheng¹

1College of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, People's Republic of China.

2School of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei, People's Republic of China.

3Zhaoke (Hefei) Pharmaceutical Co. Ltd., Hefei, People's Republic of China.

Abstract

Since abstracts are published separately by Information Services, they should contain sufficient hard data to be appreciated by the reader. The abstract should not exceed 250 words and should be prepared in a single paragraph.

The abstract should briefly and clearly present the objective, experimental approach, new results as quantitative data if possible, and conclusions. It should mention the techniques used without going into methodological detail and mention the most important results.

Abbreviations should be kept to a minimum and should be defined in both the Abstract and text. Please do not include any reference citations in the abstract. If the use of a reference is unavoidable, the full citation should be given within the abstract.

Key Words

A list of key words or indexing terms (no more than 6) should be included avoiding generic terms.

Running title

This short title, to be used as a page heading, should not exceed 60 letters and spaces.

Corresponding author

One of the authors should be designated as the corresponding author. It is the corresponding author's responsibility to ensure that the author list is accurate and complete. If the article has been submitted on behalf of a consortium, all consortium members and affiliations should be listed in the Acknowledgments section. Provide the name and email address of the author to whom correspondence should be sent identified with an asterisk.

Introduction

The Introduction should put the focus of the manuscript into a broader context and reflects the present state-of-art of the subject. This should state briefly and clearly the objectives of the investigation with reference to previous works. Extensive review of the literature should be avoided and substituted for references of recent review publications.

Material and Methods

These should be described in sufficient detail that the work can be reproduced.

Well-established procedures and techniques require only a citation of the original source, except when they are substantially modified. Reports of experimental studies on humans and

animals must certify that the research received prior approval by the appropriate institutional review Ethics Committee.

Results and Discussion: Results must be presented clearly and concisely and in logical order. This section should provide results of all of experiments required to support the conclusions of the paper. When possible, use figures or tables to present data rather than text. Large datasets, including raw data, should be submitted as supplementary files; these are published online linked to the article. Discussion should interpret the results and assess their significance in relation to existing knowledge. Speculation not warranted by actual data should be avoided. The Discussion should spell out the major conclusions and interpretations of the work including some explanation of the significance of these conclusions.

Acknowledgments

When appropriate, briefly acknowledge technical assistance, advice and contributions from colleagues. People who contributed to the work but do not fit the criteria for authors should be listed in the Acknowledgments section, along with their contributions. Donations of animals, cells, or reagents should also be acknowledged. You must also ensure that anyone named in the Acknowledgments agrees to being so named. Financial support for the research and fellowships should be acknowledged in this section (agency and grant number).

Figures

Figures must be submitted in high-resolution version (600 dpi).

Preparing figure files for submission

BJPS encourages authors to use figures where this will increase the clarity of an article. The use of color figures in articles is free of charge. The following guidelines must be observed when preparing figures. Failure to do so is likely to delay acceptance and publication of the article.

- Each figure of a manuscript should be submitted as a single file.
- Figures should be numbered in the order they are first mentioned in the text, and uploaded in this order.
- Figure titles and legends should be provided in the main manuscript as a List of Figures, not in the graphic file.
- The aim of the figure legend should be to describe the key messages of the figure, but the figure should also be discussed in the text.
- An enlarged version of the figure and its full legend will often be viewed in a separate window online, and it should be possible for a reader to understand the figure without moving back and forth between this window and the relevant parts of the text.
- The legend itself should be succinct, while still explaining all symbols and abbreviations. Avoid lengthy descriptions of methods. Statistical information should be given as well as the statistical tests used.
- Arrows or letters should be used in the figure and explained in the legend to identify important structures.
- Figures with multiple panels should use capital letters A, B, C, etc. to identify the panels.
- Each figure should be closely cropped to minimize the amount of white space surrounding the illustration. Cropping figures improves accuracy when placing the figure in combination with other elements, when the accepted manuscript is prepared for publication.
- Individual figure files should not exceed 5 MB. If a suitable format is chosen, this file size is adequate for extremely high quality figures.

Please note that it is the responsibility of the author(s) to obtain permission from the copyright holder to reproduce figures (or tables) that have previously been published elsewhere. In order for all figures to be open-access, authors must have permission from the rights holder if they wish to include images that have been published elsewhere in non-open-access journals. Permission should be indicated in the figure legend, and the original source included in the reference list;

Supported file type

The following file format can be accepted: TIFF (suitable for images) or JPEG with 600 dpi, and Word file for the manuscript.

Tables

- Tables must be submitted in Word (.doc) or Excel (.xls), not as an image.

- Tables must be numbered consecutively with Roman numerals in the text.
- Tables must have a concise and descriptive title.
- All explanatory information should be given in a footnote below the table. Footnotes should be used to explain abbreviations and provide statistical information, including statistical tests used.
- All abbreviations must be defined in this footnote, even if they are explained in the text.
- Tables must be understandable without referring to the text.
- Tables occupying more than one printed page should be avoided, if possible.
- Vertical and diagonal lines should not be used in tables; instead, indentation and vertical or horizontal space should be used to group data.

References

References should be prepared and listed according to Vancouver standard reference style. Entries should be arranged in alphabetical order by author at the end of the paper. All authors' names should be given. Accuracy and completeness of reference data is the responsibility of the authors.

Only published references should be included in the reference list. Meeting abstracts, conference talks, or papers that have been submitted but not yet accepted should not be cited. Limited citation of unpublished work should be included in the body of the text only. All personal communications should be supported by a letter from the relevant authors.

References should be cited in the text by the authors' names, with only the first letter in capital letter followed by the year of publication. For more than three authors, the first has to be cited followed by the expression *et al.* (in italic). Small letters close to the year must differentiate references of the same authors and year of publication.

Examples: (Fujisawa, Atsumi, Kadoma, 1989) (Aviral *et al.*, 2009) (Dodu, Rotari, Vazques, 2012) (Liu *et al.*, 2011a) (Liu *et al.*, 2011b)

Please use the following style for the reference list:

Published Papers. First 6 authors followed by *et al.*, Title, Journal (abbreviation in italic), Year, Volume, Complete Pages.

Abe T, Fukushima N, Brune K, Boehm C, Sato N, Matsubayashi H, et al. Genome-Wide allelotypes of familial pancreatic adenocarcinomas and familial and sporadic intraductal papillary mucinous neoplasms. *Clin Cancer Res*. 2007;13(20):6019-25.

Ali A, Iqbal F, Taj A, Iqbal Z, Amin MJ, Iqbal QZ. Prevalence of microvascular complications in newly diagnosed patients with Type 2 diabetes. *Pak J Med Sci*. 2013;29(4):899-902.

Calvo A, Gimenez MJ. Ex Vivo Serum Activity (Killing Rates) After Gemifloxacin 320 mg Versus Trovafloxacin 200 mg Single Doses Against Ciprofloxacin-Susceptible and -Resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Int J Antimicrob Ag*. 2007;20:144-6.

Lammers AE, Hislop AA, Flynn Y, Haworth SG. The 6-minute walk test: normal values for children of 4-11 years of age. *Arch Dis Child*. 2008;93:464-468.

Zhang Q, Malik P, Pandey D, Gupta S, Jagnandan D, Belin de CE, et al. Paradoxical activation of endothelial nitric oxide synthase by NADPH oxidase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:1627-1633.

Article accepted for publication but not yet published. First 6 authors followed by *et al.*, Title, Journal (abbreviation in italic), Year of expected publication, (in press) at the end of the citation.

Janiszewski M, Lopes LR, Carmo AO, Pedro MA, Brandes RP, Santos CXC, et al. Regulation of NAD(P)H oxidase by associated protein disulfide isomerase in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem*. 2005 (in press).

Internet Communication. Ensure that URLs are active and available. Provide DOI, if available.

Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Leishmaniose visceral grave: normas e condutas [Internet]. Brasília (DF): Ministério da Saúde, 2006. [citado 2008 Jan 7].

60 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em:
http://dtr2001.saude.gov.br/editora/produtos/livros/pdf/06_0072_M.pdf.

CAPES Statistics. [citad 2006 Mar 16]. Available from:
<http://www.capes.gov.br/capes/portal>.

Developmental toxicology. [citad 2015 Apr 10]. Available from:
<http://www.devtox.org/nomenclature/organ.php>.

Book, Whole. Authors, Book title, Edition, City, Publisher, Year.

Hewitt W. Microbiological assay for pharmaceutical analysis: a rational approach. Boca Raton: CRC Press; 2003.

Jenkins PF. Making sense of the chest x-ray: a hands-on guide. New York: Oxford University Press; 2005. 194 p.

Milech A, et al., Oliveira JEP, Vencio S, organizadores. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes. São Paulo: A.C. Farmacêutica;2016.

Book, Chapter. Authors, Chapter Title, Editors, Book title, Edition, City, Publisher, Year, Pages of citation.

Beizer JL, Timiras ML. Pharmacology and drug management in the elderly. In: Timiras PS, editor. Physiological basis of aging and geriatrics. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 1994. p. 279-84.

Rojko JL, Hardy WD Jr. Feline leukemia virus and other retroviruses. In: Sherding RG, editor. The cat: diseases and clinical management. New York: Churchill Livingstone; 1989. p. 229-332.

Report

World Health Organization. WHO. Department of Mental Health and Substance Abuse. Mental health atlas 2005. Geneva: World Health Organization; 2005. 409 p.

World Health Organization. WHO. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases, First WHO report on neglected tropical diseases. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2010.

Thesis and Dissertations

Joselevitch C. Visão no ultravioleta em *Carassius auratus* (Ostariophysi, Cypriformes, Cyprinidae): estudo eletrofisiológico do sistema cone - células horizontais. [Master's dissertation]. São Paulo: Instituto de Psicologia, USP; 1999.

Marcolongo R. Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica. [dissertação]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas; 2003.

Laws

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução nº. 259, de 20 de setembro de 2002. Regulamento Técnico para Rotulagem de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União 23 set 2002; Seção 1.

Conference, Symposium Proceedings. Cite papers only from published proceedings.

Hejzlar RM, Diogo PA. The use of water quality modelling for optimizing operation of a drinking water reservoir. In: Proceedings of the International Conference Fluid Mechanics and Hydrology. 1999 Jun 23-26; Prague. Prague: Institute of Hydrodynamics AS CR; 1999. p 475-482.

Proceedings of the 10th annual meeting of the Canadian Society for Pharmaceutical

Sciences. J Pharm Pharm Sci. 2007 Dec 3;10(4):1s-186s.

Audiovisual Material

Physician's Desk Reference (PDR). Release 2003.1AX. [CD-ROM]. Montvale: Thomson PDR; 2003.

Computer Program

Dean AG, Dean JA, Coulombier D, Brendel KA, Smith DC, Burton AH, et al. *Epi info, version 6.04: a word processing database and statistics program for public health on IBM-compatible microcomputers*. [Computer program]. Atlanta: Centers of Disease Control and Prevention; 1998.

Patent

Larsen CE, Trip R, Johnson CR. Methods for procedures related to the electrophysiology of the heart. Patent No. 5.529.067. Novoste Corporation; 1995.

"Unpublished results" and "Personal communication". Reference should appear in the text with the individual name(s) and initials and not in the reference list. (Santos CS, da-Silva GB, Martins LT, unpublished results).

It is assumed that the author has obtained permission from the source when "personal communication" is cited.