

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM
GASTROENTEROLOGIA E HEPATOLOGIA

Análise da microbiota intestinal em pacientes com cirrose compensada e descompensada em ambiente ambulatorial e em pacientes com cirrose descompensada hospitalizados em um hospital terciário do sul do Brasil

AUGUSTO MANTOVANI

Tese de Doutorado

PORTO ALEGRE, BRASIL

2023

Augusto Mantovani

Análise da microbiota intestinal em pacientes com cirrose compensada e descompensada em ambiente ambulatorial e em pacientes com cirrose descompensada hospitalizados em um hospital terciário do sul do Brasil

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Mário Reis Álvares-da-Silva

PORTO ALEGRE, BRASIL

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

Mantovani, Augusto

Análise da microbiota intestinal em pacientes com cirrose compensada e descompensada em ambiente ambulatorial e em pacientes com cirrose descompensada hospitalizados em um hospital terciário do sul do Brasil / Augusto Mantovani. -- 2023.

63 f.

Orientador: Mário Reis Álvares-da-Silva.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Microbiota intestinal. 2. Cirrose. 3. Eixo intestino-fígado. 4. Interleucina. 5. Inflamação. I. Reis Álvares-da-Silva, Mário, orient. II. Título.

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

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Antonieta e Clóvis, por me mostrarem o mapa.

À minha amada esposa Helen, por viajar comigo e ser minha eterna guia.

Às minhas filhas Helena e Olívia (na barriga da mamãe) por me fazerem
entender o sentido da viagem.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Mário Reis Álvares-da-Silva, pela confiança, paciência, sabedoria, parceria e dedicação.

À Professora Larisse Longo, grande conhecedora de todos os aspectos da pesquisa clínica, em todos seus passos, que foi fundamental para o desenvolvimento deste projeto, sempre se mostrando disponível mesmo a milhares e milhares de quilômetros.

Ao mestre Gabriel Tayguara Guerreiro, que, como o sobrenome sugere, foi incansável na busca de pacientes, termos, amostras, organização de dados.

Ao Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela oportunidade de desenvolver este estudo.

Aos pacientes envolvidos no projeto pela oportunidade de auxiliar no entendimento de um mundo sendo descoberto.

Ao Fundo de Incentivo à Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE/HCPA) e ao Programa de Apoio à Pós-graduação (PROAP) pelo financiamento desta pesquisa.

SUMÁRIO

Resumo	7
Abstract.....	9
Lista de Abreviaturas	11
1. Introdução.....	13
2. Revisão Bibliográfica	16
3. Justificativa	21
4. Questão da Pesquisa.....	22
5. Hipótese.....	23
6. Objetivos	24
7. Artigo em inglês	25
8. Conclusões	57
9. Considerações finais e Perspectivas Futuras	58
10.Referências Bibliográficas	59

RESUMO

Introdução: A microbiota intestinal (MI) consiste em 10 a 100 trilhões de bactérias, fungos e vírus. Devido ao intenso fluxo hepático da veia porta, o fígado é considerado uma das principais linhas de defesa contra antígenos derivados do intestino, como bactérias e subprodutos bacterianos. Em pacientes com doença hepática, ocorre um desequilíbrio gerado por alterações na composição e função da MI, denominado disbiose, resultando em alterações fisiopatológicas que promovem inflamação sistêmica e contribuem para complicações clínicas. Não há dados no Brasil que avaliem um amplo espectro de cirróticos com modificações específicas na MI, marcadores de inflamação e desfechos clínicos.

Objetivos: Avaliar a associação entre MI e internação, reinternação hospitalar e mortalidade em 90 dias, e sua correlação com marcadores inflamatórios, lipopolissacarídeos, variáveis clínicas e bioquímicas.

Métodos: Coorte prospectiva envolvendo pacientes ambulatoriais compensados e descompensados e pacientes internados descompensados, comparados com controles saudáveis. Foram avaliadas variáveis clínicas e laboratoriais, marcadores inflamatórios (IL-1, IL-6, TNF-alfa, IL-10), lipopolissacarídeos bacterianos e composição da MI. Os pacientes foram acompanhados por 90 dias avaliando internação, reinternação e mortalidade.

Resultados: foram incluídos 165 indivíduos (pacientes ambulatoriais: 50 compensados, 49 descompensados; 36 pacientes descompensados internados; 30 saudáveis). 48,5% eram do sexo feminino, a idade média foi de 61 anos, a principal etiologia da cirrose foi a hepatite C (27,3%), sendo a maioria dos pacientes Child-Pugh (CP) B, com mediana de MELD de 13. Os níveis de IL-6 e IL-10 foram correlacionados com mortalidade em 90 dias e TNF- α correlacionado com internação/reinternação hospitalar em 90 dias. À medida que a doença hepática progrediu, a diversidade da microbiota diminuiu entre os grupos ($r=0,05$; $p<0,004$). Houve 9 óbitos e 22 internações ou reinternações. A composição da MI teve correlação com norfloxacin ($r = 0,36$, $p = 0,04$), encefalopatia ($r = 0,31$, $p = 0,01$), lactulose ($r = 0,26$, $p = 0,01$), mortalidade em 90 dias ($r = 0,22$, $p = 0,04$), CP ($r = 0,17$, $p=0,01$), IL-6 ($r = 0,164$, $p=0,04$), uso de antibiótico nos últimos 6 meses ($r = 0,16$, $p = 0,01$), MELD ($r = 0,145$, $p= 0,01$) e internação/reinternação em 90 dias ($r = 0,08$, $p = 0,03$). As razões Firmicutes/Bacteroidetes e Firmicutes/Proteobacteria foram progressivamente mais significativas e tiveram associação com mortalidade em 90 dias.

Conclusões: A disbiose intestinal está associada a marcadores de inflamação, internação/reinternação e mortalidade em 90 dias. As razões

descritas entre os filos Firmicutes/Bacteroidetes e Firmicutes/Proteobacteria podem potencialmente avaliar o risco de descompensação da cirrose e mortalidade.

Palavras-Chave: Cirrose; Microbiota intestinal; Eixo intestino-fígado; Firmicutes; Bacteroides; Proteobacteria; Inflamação; Interleucina-10; Interleucina-6.

ABSTRACT

Introduction: The human gut microbiota (GM) consists of 10 to 100 trillion bacteria, fungi and viruses. Due to the hepatic flow from portal vein, the liver is considered one of the main lines of defense against gut-derived antigens, such as bacteria and bacterial by-products. In patients with liver disease, there is an imbalance generated by changes in the composition and function of the GM, called dysbiosis, resulting in pathophysiological changes that promotes systemic inflammation and contribute to clinical complications. There is no data in Brazil evaluating a broad spectrum of cirrhotics regarding specific modification in GM, inflammation markers and clinical outcomes. **Objectives:** Evaluate the association between GM and 90-day hospitalization, rehospitalization and mortality, and its correlation with inflammatory markers, lipopolysaccharides, clinical and biochemical variables. **Methods:** Prospective cohort involving compensated and decompensated outpatients, and decompensated inpatients, compared to healthy controls. Clinical and laboratory variables, inflammatory markers (IL-1, IL-6, TNF-alpha, IL-10), GM and bacterial lipopolysaccharides were evaluated. Patients were followed for 90 days evaluating hospitalization, rehospitalization and mortality. **Results:** 165 individuals were included (outpatients: 50 compensated, 49 decompensated; 36 decompensated inpatients; 30 healthy). 48,5% were female, mean age was 61 years-old, main cirrhosis' etiology was hepatitis C (27.3%), with the majority of Child-Pugh (CP) B patients, median MELD of 13. IL-6 and IL-10 levels correlated with 90-day mortality and TNF- α correlated with 90-day hospitalization/rehospitalization. As liver disease progressed, microbiota diversity decreased between the groups ($r=0.05$; $p<0.004$). There were 9 deaths and 22 hospitalizations or rehospitalizations. GM composition had correlation with norfloxacin ($r= 0.36$, $p=0.04$), encephalopathy ($r = 0.31$, $p = 0.01$), lactulose ($r = 0.26$, $p = 0.01$), 90-day mortality ($r = 0.22$, $p = 0.04$), CP ($r = 0.17$, $p=0.01$), IL-6 ($r = 0.164$, $p=0.04$), previous 6-month antibiotic use ($r = 0.16$, $p = 0.01$), MELD ($r = 0.145$, $p=0.01$) and 90-day hospitalization/rehospitalization ($r = 0.08$, $p = 0.03$). The ratios Firmicutes/Bacteroidetes and Firmicutes/Proteobacteria were progressively more significant and had association with 90-day mortality. **Conclusions:** GM dysbiosis is associated with inflammation markers, 90-day mortality and 90-day hospitalization. The ratios described between phyla Firmicutes/Bacteroidetes and Firmicutes/Proteobacteria potentially could assess decompensation risk and mortality.

Keywords: Cirrhosis; Gut microbiota; Gut-liver axis; Firmicutes; Bacteroidetes; Proteobacteria; Inflammation; Interleukin-10; Interleukin-6.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACLF: Acute-on-Chronic Liver Failure

CDR: índice de cirrose-disbiose

CP: Child-Pugh score

DAMPs: padrões moleculares associado ao dano

FBR: Firmicutes / Bacteroidetes ratio

FPR: Firmicutes / Proteobacteria ratio

GM: gut microbiome

GPPG: Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HE: Hepatic encephalopathy

IHAC: insuficiência hepática aguda sobre crônica

IL-10: interleukin-10

IL-1b: interleukin-1 beta

IL-6: interleukin-6

IQR: interquartile range

KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes

LDA: linear discriminant analysis

LEfSe: linear discriminant effect size

LEHG: Laboratório Experimental de Hepatologia e Gastroenterologia

LPS: bacterial lipopolysaccharides

MELD: Model for End-stage Liver Disease

NASH: esteatohepatite não-alcoólica

PAMPs: padrões moleculares associados ao patógeno

PBE: peritonite bacteriana espontânea

PPI: proton pump inhibitors

ROC: receiver operating characteristic

SBP: Spontaneous bacterial peritonitis

SCB: supercrescimento bacteriano no intestino delgado

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TNF-a: tumor necrosis factor alpha

UAMP: Unidade de Análises Moleculares e de Proteínas

UFC: Unidades Formadoras de Colônias

1. INTRODUÇÃO

O microbioma humano, que pode ser considerado tão complexo quanto um órgão próprio, consiste em 10 a 100 trilhões de bactérias, fungos e vírus. A distribuição das bactérias dentro do trato gastrointestinal depende de fatores relacionados à espécie e às condições de colonização, tais como motilidade, pH, pressão de oxigênio, disponibilidade de nutrientes e secreções do hospedeiro (sais biliares, enzimas). Os aspirados do cólon podem revelar concentrações de até 10^{12} Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/mL, enquanto que os aspirados do jejuno são muito menos concentrados, em torno de 10^3 - 10^4 UFC/mL (1). O intestino e o fígado são órgãos chave na absorção e metabolismo de nutrientes, sendo que os ácidos biliares, drogas e toxinas sofrem extensa circulação entero-hepática (2). Decorrente do intenso fluxo hepático advindo da veia porta, o fígado é considerado uma das principais linhas de defesa contra antígenos derivados do intestino, tais como bactérias e subprodutos bacterianos (3). A translocação bacteriana ocorre fisiologicamente e o indivíduo saudável é capaz de eliminar as bactérias translocadas, através da resposta do sistema imune (1, 4).

Os componentes da microbiota bacteriana são abrangentemente classificados em filos, sendo os mais relevantes clinicamente o Firmicutes, Bacteroides e Proteobacteria (5, 6). O filo Firmicutes é principalmente responsável pela síntese de ácidos graxos de cadeia curta como butirato, palmitato e acetato a partir de carboidratos, com propriedades de estabilizar a barreira intestinal e também servir como substrato energético de colonócitos. Estas bactérias autóctones convertem ácidos biliares primários a secundários pela enzima 7-alfa-hidroxilase. Outras bactérias classificadas como não-autóctones consistem de diversos Gram-negativos como *Escherichia coli* e *Klebsiella* que podem ser associadas a infecções sistêmicas como peritonite bacteriana espontânea (PBE) (6).

Alterações na composição da microbiota podem ser influenciadas pela dieta, idade, peso corporal, medicamentos, doenças hepáticas, etc (7, 8). A composição e a diversidade da microbiota podem ser determinadas através de análises metagenômicas utilizando o sequenciamento do gene 16S rRNA (9).

A disbiose intestinal e as alterações na integridade da barreira intestinal são gatilhos para a translocação bacteriana e desempenham um papel crítico no início e na progressão das doenças hepáticas crônicas (10). Uma das funções mais importantes da mucosa

intestinal é prevenir a translocação de bactérias viáveis ou produtos bacterianos do lúmen intestinal para a submucosa e circulação sistêmica. Esta função, no entanto, é significativamente alterada na cirrose. Uma consequência relevante desse fato é a elevada predisposição dos pacientes com cirrose descompensada em desenvolver infecções espontâneas (11).

A composição e diversidade da microbiota intestinal humana é atualmente um dos campos de pesquisa mais dinâmicos devido aos avanços tecnológicos e metodológicos (10).

A presença de cirrose hepática pode desencadear o supercrescimento bacteriano, gerando maior permeabilidade intestinal e endotoxemia crônica pela passagem dos lipopolissacarídeos (LPS) e padrões moleculares associados ao patógeno (PAMPs) que ativam as células de Kupffer e amplificam a resposta inflamatória, agravando os danos hepatocelulares (12, 13-15). A resposta imune ocorre principalmente através dos receptores toll like (TLRs) que atuam na eliminação dessas endotoxinas (12, 15). É postulado que o TLR4 e os LPS derivados da microbiota intestinal contribuem para a progressão da fibrose hepática (13).

Características da própria cirrose, incluindo hipertensão portal, alterações na microbiota intestinal, inflamação e estresse oxidativo, podem afetar a função de barreira do intestino delgado e grosso e contribuir para o desenvolvimento de suas complicações (16). Bajaj et al. (2014) em uma coorte longitudinal, relatam mudanças progressivas na diversidade da microbiota intestinal, sendo que estas alterações acompanham o curso clínico da cirrose hepática (17). Estes autores demonstraram diminuição da taxa autóctones potencialmente benéfica com supercrescimento relativo da taxa potencialmente patogênica, sendo estas variáveis associadas à progressão da doença hepática e endotoxemia (17). Alguns autores demonstraram uma associação entre o aumento da permeabilidade intestinal e a gravidade da cirrose hepática avaliada pela classificação de CP, mas outros não conseguiram reproduzir esses resultados (18-20). Problemas metodológicos devem ser levados em conta ao interpretar esses resultados conflitantes (21).

Alterações na microbiota intestinal foram associadas a hospitalizações de 90 dias, falência de órgãos e morte em pacientes internados com cirrose, sendo que esses efeitos sublinham o impacto aditivo da disbiose intestinal com os seus desfechos clinicamente

relevantes (22). Portanto, na última década o interesse em investigar o papel da microbiota intestinal como um determinante de saúde e doença ganhou maior impulso.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Microbiota em doenças hepáticas

Em pacientes hepatopatas, há um desequilíbrio gerado por alterações na composição e na função da microbiota intestinal, chamado de disbiose, resultando em alterações fisiopatológicas que contribuem para complicações clínicas. A disbiose inicia antes mesmo do desenvolvimento da cirrose, durante a progressão da doença hepática crônica, com a alteração microbiana sendo predominantemente influenciada pela etiologia de base (23).

Há diferença significativa na quantidade dos gêneros *Bacteroides* e *Ruminococcus* em pacientes com esteatohepatite não-alcoólica (NASH), comprovados em biópsia, com e sem fibrose. Nos casos de NASH sem fibrose, houve uma predominância de *Bacteroides*; já nos casos com fibrose, maior abundância relativa de *Bacteroides* e *Ruminococcus* (24).

Na doença hepática alcoólica, alterações na microbiota intestinal são geradas precocemente pelo próprio etanol - seu uso crônico resulta em aumento da permeabilidade intestinal (25). O consumo agudo do álcool, mesmo em voluntários saudáveis, gera aumento na endotoxemia sérica, com resultante maior translocação bacteriana (26). Notou-se também que a quantidade relativa de *Bacteroides* diminuiu tanto em etilistas sem doença hepática quanto em hepatopatas, porém não em controles abstêmios (27).

Ao avaliar o efeito do álcool na disbiose e na permeabilidade intestinal, evidenciou-se diminuição da população de *Ruminococcus* em etilistas não-cirróticos, com especial alteração da permeabilidade intestinal neste grupo. A abstinência alcoólica apresentou aumento desta população bacteriana, mesmo em pacientes com permeabilidade intestinal aumentada. As alterações de microbiota prosseguem conforme o etilista progride à cirrose, com diminuição de Firmicutes e aumento de *Enterobacteriaceae*, quando comparados a cirróticos de etiologia não-alcoólica. Sendo assim, a disbiose começa cedo na doença hepática, progride conforme a hepatopatia se desenvolve e é diretamente influenciada pela sua etiologia (25).

2.2 Microbiota em cirrose

Conforme a doença hepática progride à cirrose, também há progressão no grau de disbiose, modificando o microbioma com aumento relativo do número de bactérias patogênicas. A etiologia proposta desta alteração em cirróticos envolve, primeiramente, a redução da síntese de ácidos biliares e a diminuição de sua recirculação ao duodeno. Os ácidos biliares têm função detergente e são bactericidas, influenciando a mucosa intestinal e a síntese de peptídeos antibacterianos (28). Posteriormente, ocorre o supercrescimento bacteriano no intestino delgado (SCB), que é progressivo a partir dos estados pré-cirróticos, resultando em alterações funcionais bacterianas e aumento da permeabilidade intestinal (29–31).

A cirrose, entretanto, altera também a resposta imunológica, causando suscetibilidade à influência da disbiose e suas complicações infecciosas. Não somente há uma disfunção imunológica local no fígado e no intestino, mas também na resposta imunológica inata sistêmica, provocando aumento do estado inflamatório difusamente (32). A nível hepático há dano de função das células de Kupffer, sistema reticuloendotelial e endotélio sinusoidal, reduzindo a vigilância imunológica, com redução do clareamento bacteriano e de endotoxinas advindas da via portal. Já à nível intestinal, há disfunção imunológica associada ao tecido linfático das placas de Peyer, que pela constante exposição a bactérias e a metabólitos bacterianos, ocasiona inflamação local, aumento da permeabilidade intestinal e liberação de mediadores inflamatórios sistêmicos (33). Os maiores causadores desta inflamação são as bactérias intestinais e seus produtos (padrões moleculares associados a patógenos) combinados com os padrões moleculares associado ao dano (DAMPs) originários do fígado. Estudos metabolômicos comprovam esta correlação (positiva e negativa) com a microbiota intestinal para reforçar a teoria que a inflamação sistêmica é derivada de uma microbiota disbiótica.

Também já foi demonstrada, em pacientes com encefalopatia hepática, uma correlação entre a elevação de marcadores inflamatórios sistêmicos (mensurados pela interleucina (IL-2, IL-4, IL-23 e IL-13) com certas famílias microbianas (*Enterobacteriaceae*, *Veillonellaceae* e *Fusobacteriaceae*) em amostras fecais (34).

Na tentativa de mensurar o grau de disbiose em cirróticos, criou-se o índice de cirrose-disbiose (CDR) que é a taxa de *Lachnospiraceae* + *Ruminococcaceae* +

Clostridiales incertae sedis XIV + Veillonellaceae dividido pela taxa de *Enterobacteriaceae + Bacteroidaceae*. No estudo que originou este índice, o CDR foi mais elevado nos controles (2,05), seguido de cirróticos compensados (0,89), descompensados (0,66) e hospitalizados (0,32), sendo inversamente proporcional à endotoxemia e à taxa de mortalidade. Entre as diversas etiologias, evidenciou-se menor valor de CDR em cirróticos por álcool (35).

Outra razão entre filos bacterianos com o intuito de tornar a informação de disbiose mais objetiva é a razão Firmicutes/Bacteroidetes, que já se mostrou bastante correlacionada com disbiose em diversos cenários clínicos (36–39).

Também é possível mensurar o grau de disbiose pela diversidade alfa (número de diferentes gêneros bacterianos dentro de um grupo) e pela diversidade beta (diferenças na diversidade entre grupos) (6).

Percebe-se, assim, que na cirrose há uma elevada suscetibilidade a infecções bacterianas secundária à disfunção imunológica global, além de um aumento da inflamação sistêmica causada principalmente por uma microbiota intestinal disbiótica, com consequentes piores desfechos clínicos.

2.3 Microbiota em cirrose descompensada e na insuficiência hepática aguda sobre crônica

Apesar de a cirrose ser primariamente uma condição hepática, com sua progressão e descompensações clínicas, pode haver envolvimento de diversos outros órgãos como sistema nervoso central (encefalopatia hepática), rins (síndrome hepatorenal) e pulmões (síndrome hepatopulmonar). Esta relação e descompensação entre os sistemas se dá, predominantemente, devido à hipertensão portal e suas alterações hemodinâmicas resultantes.

A progressão de um estado compensado a descompensado não tem um limite preciso. Diversas condições resultam em descompensação aguda, como uso continuado de álcool, uso de medicamentos, desenvolvimento de hepatocarcinoma, trombose venosa portal aguda, sangramento digestivo e infecções. A microbiota é relevante na encefalopatia hepática e em infecções, além da progressão para a descompensação crônica e a insuficiência hepática aguda sobre crônica (IHAC) (6). Evidencia-se DNA bacteriano translocado para o líquido de ascite frequentemente em pacientes descompensados,

mesmo sem PBE, e esta translocação é associada com aumento da resposta inflamatória sistêmica, endotoxemia e desfechos negativos. Com a descompensação, há piora do grau de disbiose, que perpetua o ciclo de exacerbação inflamatória e endotoxemia (22, 40). Alterações na microbiota intestinal foram associadas a hospitalizações nos próximos 90 dias, falência de órgãos e morte em pacientes internados com cirrose, sendo que esses efeitos realçam o impacto aditivo da disbiose intestinal com os seus desfechos clinicamente relevantes (16).

Em um estudo específico de microbioma e IHAC, evidenciou-se menor quantidade de *Bacteroidaceae*, *Ruminococcaceae* e *Lachnospiraceae* em amostras fecais e aumento da quantidade de *Pasteurellaceae*, *Streptococcaceae* e *Enterococcaceae*. Também mostrou-se que a quantidade relativa de *Pasteurellaceae* em paciente em IHAC e com encefalopatia foi um preditor independente de mortalidade (17).

2.4 Implicações da composição da microbiota nas doenças hepáticas

Dadas estas fortes associações entre infecções e mortalidade em cirróticos, entender o eixo intestino-fígado e as variáveis que o influenciam é bastante relevante por proporcionar potenciais pontos de intervenção durante o insulto (em estados pré-cirróticos) e após o estabelecimento de cirrose para prevenir descompensações e sua morbimortalidade associada (6).

Por exemplo, evidenciou-se que o uso do laxativo lactulose - o tratamento mais difundido da encefalopatia hepática - ocasiona alterações significativas da composição bacteriana intestinal (18); já o uso do antibiótico não-absorvível rifaximina modula o microbioma, majoritariamente em seu componente funcional (aumentando a produção de ácidos graxos e metabólitos de carboidratos) e pouco em sua composição (19), melhorando a encefalopatia, que apresenta íntima relação com a disbiose. Probióticos também podem reduzir a inflamação sistêmica e endotoxemia em cirróticos com encefalopatia mínima (20, 21). O uso por 8 semanas de *Lactobacillus rhamnosus* GG em cápsulas, comparativamente a placebo, mostrou ao seu término um aumento de bactérias autóctones (*Lachnospiraceae* e *Clostridiales* XIV) e redução nas bactérias patogênicas (*Enterobacteriaceae* e *Porphyromonadaceae*), com conseqüente aumento do CDR no grupo intervenção. Não houve alteração significativa nos ácidos biliares, porém houve alteração funcional na redução de aminoácidos potencialmente amonigênicos (41). Porém, faltam evidências

robustas acerca da segurança do uso de probióticos em pacientes hepatopatas crônicos, visto que a permeabilidade intestinal aumentada pode aumentar a incidência de sepse.

Observam-se também efeitos significativos na composição da microbiota intestinal em cirróticos utilizando inibidores de bomba de prótons, com redução da microbiota autóctone e aumento de bactérias com origem na cavidade oral; além disso, evidenciou-se aumento da taxa de readmissão hospitalar em usuário destas medicações (42).

Na última década, o interesse em investigar o papel da microbiota intestinal como um determinante de saúde e doença ganhou maior impulso. De fato, a melhor compreensão das interações hospedeiro-microbiota intestinal auxiliará no entendimento de como essa relação pode se desequilibrar e contribuir para vários transtornos inflamatórios e metabólicos. A manutenção da integridade da barreira intestinal é de fundamental importância na preservação do eixo intestino-fígado; por sua vez a disbiose pode induzir ao aumento da permeabilidade intestinal intensificando o processo inflamatório e, assim, estimulando a progressão da doença hepática crônica, incluindo a cirrose e a progressão para IHAC (9, 43, 44, 45).

3. JUSTIFICATIVA

A disbiose intestinal e as alterações na integridade da barreira intestinal são gatilhos para a translocação bacteriana e desempenham um papel crítico na progressão das doenças hepáticas crônicas e em suas exacerbações. São muito escassas as evidências internacionais e inexistem estudos em nosso país em relação à microbiota de pacientes cirróticos compensados e descompensados em uma mesma instituição.

4. QUESTÃO DE PESQUISA

- 1) O grau de disbiose é proporcional à gravidade da cirrose?
- 2) Há relação entre a disbiose e os marcadores inflamatórios com as taxas de mortalidade e de internação/reinternação em 90 dias?

5. HIPÓTESES

- 1) O grau de disbiose é diretamente correlacionado com a gravidade da cirrose.
- 2) Há uma relação diretamente proporcional entre a disbiose e os marcadores inflamatórios com as taxas de mortalidade e de internação/reinternação em 90 dias.

6. OBJETIVOS

6.1 *Objetivo Geral*

Avaliar a associação entre MI e internação/reinternação hospitalar e mortalidade em 90 dias, e sua correlação com marcadores inflamatórios, lipopolissacarídeos, variáveis clínicas e bioquímicas.

6.2 *Objetivos Específicos*

1. Coletar os dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos sujeitos de pesquisa;
2. Avaliar a taxa de internação/reinternação hospitalar e a mortalidade em 90 dias;
3. Analisar a composição e diversidade da microbiota intestinal dos sujeitos de pesquisa, através da diversidade alfa e beta, além das razões entre filós;
4. Correlacionar a composição da microbiota com marcadores de inflamação sistêmica (IL-1 beta, IL-6, TNF-alfa, IL-10) e lipopolissacarídeos.