

Uso de compostos probióticos como coadjuvante no controle da Doença Intestinal Inflamatória canina: será uma luz no fim do túnel?

RESUMO

A doença intestinal inflamatória idiopática (DII) é uma doença comum na prática clínica, tanto em medicina humana como na veterinária. A busca por terapias efetivas tem sido alvo constante de pesquisas, uma vez que o indivíduo que vive nesta condição tem sua qualidade de vida reduzida e uma predisposição para o desenvolvimento de neoplasias. A barreira formada pela membrana intestinal entre os meios internos e externos impede que antígenos e toxinas presentes na luz intestinal tenham acesso aos tecidos. Para isso, a permeabilidade da membrana deve estar estável, o que é auxiliado pela presença de bactérias probióticas. A disbiose é um fator que pode levar ao estabelecimento da DII, pois as bactérias patogênicas parecem alterar o equilíbrio da permeabilidade da membrana intestinal, tornando-a mais fraca. Esta revisão teve a finalidade de evidenciar os resultados terapêuticos do uso de coquetel de probióticos em cães com DII. O uso de compostos probióticos, tanto sozinho como associado a terapias medicamentosas, parece ser efetivo para o tratamento da doença intestinal inflamatória crônica canina. Eles têm demonstrado efeito na manutenção da permeabilidade da barreira intestinal e conseqüentemente, na remissão do quadro inflamatório e na diminuição do CIBDAI.

Palavras-chave: enteropatia crônica; eubiose; disbiose.

1.INTRODUÇÃO

É sabido que o organismo de seres humanos e animais é colonizado por trilhões de micro-organismos, que vivem em estado de mutualismo, onde são beneficiados e, conseqüentemente, mantêm um estado de equilíbrio fisiológico chamado de eubiose. Estima-se que cerca de 1,5 kg de peso de um indivíduo, seja em decorrência destes micro-organismos (BARBUTTI et al, 2020).

Algumas bactérias que colonizam o trato gastrointestinal têm um potencial patogênico e, se o equilíbrio for rompido, pode levar a um estado conhecido por disbiose. Este desequilíbrio é alvo de inúmeras pesquisas, tanto em humanos como em animais, e existe a hipótese de que pode levar ao início de quadros inflamatórios na mucosa intestinal (BARBUTTI et al, 2020).

O efeito do uso de probióticos compostos por cepas distintas de bactérias benéficas tem sido estudado para remissão e controle de doenças inflamatórias intestinais crônicas tanto em humanos (DERWA et al, 2017; BARBUTTI et al, 2020) como em animais (ROSSI et al, 2014; WHITE et al, 2017; ROSSI et al, 2018).

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura a fim de se evidenciar os resultados terapêuticos do uso de coquetel de probióticos em cães com doença intestinal inflamatória crônica (DII).

2.MUCOSA INTESTINAL E IMUNIDADE

A mucosa intestinal é composta por epitélio colunar simples com borda estriada. Entre as células colunares, encontram-se células caliciformes e na lâmina própria e na submucosa, ocorrem agregações de nódulos linfáticos conhecidos como placa de Peyer que são compostas por tecido linfóide e células do sistema imune como células B, T, macrófagos e células dendríticas. (MCGAVIN, 2013).

O epitélio intestinal tem a capacidade de atuar como uma barreira entre os meios interno e externo, o que é de extrema importância para a manutenção do equilíbrio do ambiente e para a saúde do animal. A permeabilidade desta barreira deve se manter estável, e seu aumento está associado a ocorrência de enfermidades como a DII (CAMILLERI et al,2012).

Um fator importante para a manutenção da integridade do epitélio intestinal é a presença de um complexo de proteínas na membrana plasmática, os complexos juncionais, do qual fazem parte as zônulas de oclusão e de adesão. Esses complexos são responsáveis pela adesão das células epiteliais e permeabilidade no

espaço paracelular. As claudinas e occludinas são componentes importantes deste complexo e têm um papel determinante na permeabilidade da barreira intestinal (GÜNZEL; YU, 2013). Algumas destas proteínas, como as claudinas, podem agir aumentando ou diminuindo a permeabilidade da barreira (CAMILLERI et al,2012).

A imunidade no trato gastrointestinal é bastante complexa e envolve diferentes tipos celulares, interleucinas pró e anti-inflamatórias, complexos de proteínas, componentes de membrana e intracelular e o espaço intersticial (TIZAR, 2014). Um exemplo de células que regulam a inflamação são as chamadas células T reguladoras (Tregs). Estas células são linfócitos T CD4+ que expressam o fator de transcrição Forkhead box P3 (FoxP3) e atuam na regulação da inflamação local por meio da produção de interleucinas anti-inflamatórias como a IL-10 (VAN HERK; VELDE, 2015). Outro fator imune é a IgA secretora que promove a eliminação de antígenos ao inibir a aderência, colonização e penetração microbiana, e diminuir a captação de antígenos alimentares (ROSSI et al, 2020).

3.O MICROBIOMA INTESTINAL

A microbiota intestinal pode ser definida como a coleção dinâmica de microrganismos dentro do trato gastrointestinal e o sistema de interações que esses organismos têm entre si e com as células do hospedeiro (BLAKE; SUCHODOLSKI, 2016). Este microbioma é composto por uma grande variedade de micro-organismos que vivem em mutualismo com seu hospedeiro. Nesta coexistência, eles se beneficiam dos nutrientes que chegam por meio do alimento do hospedeiro. Por sua vez, fornecem nutrientes derivados de sua fermentação, atuam na defesa contra patógenos intestinais e auxiliam na formação de um epitélio e sistema imune saudáveis, colaborando para a manutenção da eubiose (WOPEREIS et al, 2014).

A eubiose é o estado onde as bactérias boas, as más e o sistema imunológico do trato gastrointestinal se encontram em equilíbrio, promovendo uma estabilidade e diversidade de micro-organismos (BARBUTTI et al, 2020). Os micro-organismos presentes no ambiente intestinal, dependendo de sua cepa e quantidade, podem agir diretamente na expressão das proteínas das zônulas de oclusão e de adesão. Eles podem modular a permeabilidade intestinal por meio de liberação de toxinas solúveis, peptídeos, metabólitos e por componentes estruturais celulares que influenciam a expressão das proteínas de junção da membrana celular dos enterócitos (CAMILLERI et al, 2012). Os ácidos graxos de cadeia curta como

acetato e butirato (HAMMER et al, 2008; FUKUDA et al, 2011), produtos finais da fermentação microbiana intestinal, acarretam o aumento da função de barreira epitelial e subsequente proteção contra patógenos (CAMILLERI et al, 2012).

Estudos feitos em diferentes espécies demonstraram que a composição bacteriana é alterada na DII e que quase todos os modelos dessa doença requerem a presença de flora intestinal; animais criados em um ambiente livre de germes raramente são afetados (CLAYBURGH et al, 2004). Existe uma associação da doença com diminuições em, por exemplo, Firmicutes, e aumento de bactérias gram-negativas como, Enterobacteriaceae. Um estudo comparando microbiota de cães com DII e a de cães saudáveis, revelou proporções diminuídas de Prevotellaceae, Clostridiales, Bacteroidaceae e Fusobacteria no primeiro grupo em comparação com o segundo (SUCHODOLSKI et al., 2012). Xenoulis et al. (2008) observaram que cães com DII têm alteração na microbiota, ocorrendo aumento de Enterobacteriaceae e Firmicutes da mucosa e diminuição de Bacteroidetes e Spirochaetes.

4. ENTEROPATIA CRÔNICA

As doenças gastrointestinais compõem uma parte significativa da rotina de uma clínica veterinária. Embora se tenha muito poucos dados estatísticos para avaliar a prevalência, ela é percebida como uma doença comum na prática clínica (RAKHA et al., 2015).

Quando os sinais clínicos ocorrem por mais de três semanas e doenças extra-intestinais e doenças intestinais infecciosas, parasitismo e neoplasia são descartadas, estabelece-se um quadro chamado de enteropatia crônica (DANDRIEUX, 2016). Ainda de acordo com a resposta apresentada ao tratamento estipulado, a enteropatia crônica pode ser classificada como enteropatia responsiva a alimentos, a antibióticos ou a imunossupressores (DANDRIEUX; MANSFIELD, 2019). A DII é um subconjunto de enteropatias crônicas que exibem inflamação no trato GI, sem causa conhecida e resposta fraca aos tratamentos acima (BLAKE; SUCHODOLSKI, 2016)

Existem três importantes fatores que são considerados fundamentais na patogênese da DII idiopática canina: as interações entre o sistema imunológico da mucosa, a suscetibilidade genética do hospedeiro e os fatores ambientais (por exemplo, microbiota, nutrição (ROSSI et al, 2014).

Em cães, a atividade da doença na DII, pode ser avaliado por um índice de pontuação, chamado de CIBDAI. Este índice fornece pontuação para sinais clínicos apresentados como atividade, apetite, presença de vômito, consistência e frequência das fezes e perda de peso, classificando o indivíduo em doença insignificante, leve, moderado e grave (JERGENS et al, 2003).

5. PROBIÓTICOS

O estudo do efeito de probióticos em humanos, demonstra que o uso de bactérias benéficas sozinhas ou combinadas tem a capacidade de induzir a remissão de doenças e colaborar com a manutenção do equilíbrio prevenindo a recorrência (BARBUTTI et al, 2020).

As pesquisas que avaliam os efeitos da manipulação do microbioma intestinal em indivíduos com disbiose e DII, observam que a possibilidade destes tratamentos com bactérias probióticas podem restabelecer a eubiose, melhorando a qualidade de vida dos indivíduos acometidos (CHENG et al, 2020). Compostos probióticos que consistem de várias estirpes bacterianas como *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. delbrueckii* subespécie *bulgaricus*, *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, e *B. infantis* e *Streptococcus salivarius* subespécie *thermophilus* têm demonstrado uma função essencial na prevenção e tratamento de doenças em animais e humanos (CHENG et al, 2020).

O uso de compostos probióticos na Retocolite Ulcerativa em humanos (DERWA et al, 2017) e em ratos (WANG et al, 2018), mostrou ter efeitos benéficos na indução da remissão e que este pode ser tão efetivo quanto compostos 5-ASA (grupo de drogas com efeito anti-inflamatório intestinal) na prevenção da recorrência. Mennigen et al (2009) demonstraram que a terapia probiótica protege a barreira epitelial em um modelo murino de colite.

Rossi et al, 2014 avaliaram o efeito do tratamento de cães com DII utilizando compostos probióticos em um grupo e uma terapia de rotina com combinação de metronidazol com prednisolona, em outro grupo. Tanto as pontuações histopatológicas como o índice CIBDAI diminuíram nos dois grupos, mostrando efeito benéfico do composto sobre a mucosa. Foi observado um aumento de células Treg FoxP3 e de TGF- β , no grupo que recebeu o tratamento com probiótico. Também foi relatado uma maior expressão da ocludina e uma diminuição de claudina-2 nos animais tratados com probiótico. Neste trabalho, os pesquisadores

sugeriram que o tratamento de cães com doença intestinal inflamatória idiopática com probióticos induz respostas imunes antiinflamatórias.

White et al (2017) estudaram cães com DII, divididos em dois grupos: um recebendo tratamento com dieta de eliminação e corticóide, e o outro grupo recebendo o mesmo tratamento associado a probiótico. Neste estudo, foi observado que não houve diferenças no número de bactérias da mucosa após o tratamento de cães com DII nos dois grupos estudados, mas alterações nas bactérias da mucosa em cães tratados com probióticos foram acompanhadas por um aumento do número de células que expressam as proteínas TJPs E-caderina, occludina e zonulina

Outro estudo feito por Rossi et al (2020) em cães saudáveis, para avaliar a suplementação com coquetel de probiótico, demonstra que seu uso não causa nenhum efeito colateral. Positivamente, o grupo dos cães suplementados apresentaram aumento nos títulos de IgA fecal e de IgG sérico, ao passo que bactérias potencialmente patogênicas como *Clostridium perfringens* apresentaram uma redução significativa e bactérias benéficas como *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp aumentaram substancialmente

Rossi et al (2018), avaliaram o efeito de um coquetel de probiótico de alta concentração de bactérias, para uso humano, na biossíntese de poliamina colônica em cães com DII. A espermina (SPM) é uma poliamina necessária para o crescimento e proliferação celular que tem a capacidade em inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias e diminuir a locomoção de células inflamatórias, portanto, sua depleção pode exacerbar as respostas inflamatórias. Neste estudo, foi observado que o coquetel de probiótico teve a capacidade de regular os níveis de poliamina, aumentando a biossíntese de poliamina na mucosa colônica inflamada canina e de reduzir a proliferação celular em uma condição hiperplásica. Após o tratamento, foram observadas diminuições significativas nas pontuações de CIBDAI e histológicas.

Estudos em humanos demonstram que algumas cepas de bactérias benéficas e o uso de coquetel de probióticos, têm resultados favoráveis na remissão e no controle de doenças intestinais inflamatórias crônicas. Em cães existem poucos estudos que avaliam o uso de coquetel de probióticos em cães e a maior parte pertence a um mesmo grupo, tornando esta área ainda pouco explorada. Estes poucos estudos, apresentam resultados promissores no tratamento e controle das DII em cães, e mais estudos precisam ser feitos para que a efetividade deste

tratamento possa ser esclarecida. As principais publicações relacionadas ao uso de probióticos e seus efeitos em cães saudáveis e/ou com doença inflamatória intestinal estão descritas na tabela 1.

TABELA 1- Principais publicações relacionadas ao uso de probióticos e seus efeitos em cães saudáveis e/ou com doença inflamatória intestinal.

Publicação	População	Amostra	Probiótico	Efeito causado
Rossi et al, 2014	Cães com DII, cães saudáveis e amostras de arquivo	20 cães doentes, 10 cães saudáveis e 3 amostras de tecido intestinal de arquivo	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium breve</i> e <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Streptococcus sulivarius subsp thermophilus</i>	Diminuições significativas nas pontuações de CIBDAI e histológicas. Diminuição na infiltração de células T CD3 + aumento de Treg FoxP3 + e TGF-β +
White et al, 2017	Cães com DII	34 cães sendo 17 no grupo tratamento+ placebo e 17 no grupo tratamento + probiótico	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i>	Expressão regulada positivamente de TJs E-caderina, occludina e zonulina; Não houve diferença significativa nas pontuações histológicas e CIBDAI nos dois grupos
Rossi et al, 2018	Cães com DII	10 cães	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i>	Aumento da biossíntese de poliamina; Diminuições significativas nas pontuações de CIBDAI e histológicas.
Rossi et al, 2020	Cães saudáveis	20 cães	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus paracasei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus brevis</i>	Aumento da IgA intestinal Aumento da IgG sistêmica

6.CONCLUSÃO

O uso de compostos probióticos, tanto sozinho como associado a terapias medicamentosas, parece ser efetivo para o tratamento da doença intestinal inflamatória crônica canina. Eles têm demonstrado efeito na manutenção da permeabilidade da barreira intestinal e conseqüentemente, na remissão do quadro inflamatório e na diminuição do CIBDAI.

7.REFERÊNCIAS

BARBUTI, RC et al. Gut microbiota, prebiotics, probiotics, and synbiotics in gastrointestinal and liver diseases: proceedings of a joint meeting of the Brazilian Society of Hepatology (SBH), Brazilian Nucleus For The Study Of Helicobacter Pylori And Microbiota (NBEHPM), and Brazilian Federation Of Gastroenterology (FBG). **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v.57, n.4, p.381-398, 2020. Epub Nov 16, 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/s0004-2803.202000000-72>.

BLAKE, AB; SUCHODOLSKI, JS. Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. **Animal Frontiers**, v.6, n.3, p.37–42, 2016. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0032>

CAMILLERI M, MADSEN K, SPILLER R, et al. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. **Neurogastroenterology & Motility**, v.24, n. 6, p. 503-512, 2012. doi: 10.1111/j.1365-2982.2012.01921.x. Erratum in: **Neurogastroenterology & Motility**, v.24, n.10, p.976, 2012. Van Meerveld, B G [corrected to Greenwood-Van Meerveld, B]. PMID: 22583600; PMCID: PMC5595063.

CHENG FS, PAN D, CHANG B, et al. Probiotic mixture VSL#3: An overview of basic and clinical studies in chronic diseases. **World Journal of Clinical Cases**, v.8, n.8, p.1361-1384, 2020. doi:10.12998/wjcc.v8.i8.1361

CLAYBURGH, D., SHEN, L.; TURNER, J. A porous defense: the leaky epithelial barrier in intestinal disease. **Laboratory Investigation**, v.84, p.282–291, 2004. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3700050>

GÜNZEL D, YU AS. Claudins and the modulation of tight junction permeability. **Physiology Review**, v.93, n.2, p.525-569. 2013

DANDRIEUX JRS. Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same? **Journal of Small Animal Practice**, v.57, n.11, p.589–599, 2016. doi:10.1111/jsap.2016.57.issue-11

DANDRIEUX, J.; MANSFIELD, C.S. Chronic Enteropathy In Canines:Prevalence, Impact And Management Strategies. **Veterinary medicine**, v.10, p.203–214, 2019.

FUKUDA S, TOH H, HASE K, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. **Nature**, v.27, n.469(7331), p.543-7, 2011. doi: 10.1038/nature09646. PMID: 21270894.

HAMER HM, JONKERS D, VENEMA K, et al. Review article: the role of butyrate on colonic function. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**. V.15, n.27(2), p.104-19, 2008 Jan. doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03562.x. Epub 2007 Oct 25. PMID: 17973645.

JERGENS AE, SCHREINER CA, FRANK DE, et al. A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.17, n.3, p.291-7, 2003. doi: 10.1111/j.1939-1676.2003.tb02450.x. PMID: 12774968.

MCGAVIN, M. D.; ZACHARY, J. F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 5ª ed., Elsevier 2013

MENNIGEN R, NOLTE K, RIJCKEN E, et al. Probiotic mixture VSL#3 protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and preventing apoptosis in a murine model of colitis. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.296, n.5, p.1140-9, 2009. doi: 10.1152/ajpgi.90534.2008. Epub 2009 Feb 12. PMID: 19221015.

ROSSI G, PENGO G, CALDIN M, et al. Comparison of microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or probiotic VSL#3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. **PLoS One**, v.10; n.9(4), p.946-99, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0094699. PMID: 24722235; PMCID: PMC3983225.

ROSSI G, CERQUETELLA M, SCARPONA S, et al. Effects of probiotic bacteria on mucosal polyamines levels in dogs with IBD and colonic polyps: a preliminary study. **Beneficial Microbes**, v.27, n.9(2), p.247-255 2018. doi: 10.3920/BM2017.0024. Epub 2017 Oct 12. PMID: 29022381.

ROSSI G, PENGO G, GALOSI L, et al. Effects of the Probiotic Mixture Slab51® (SivoMixx®) as Food Supplement in Healthy Dogs: Evaluation of Fecal Microbiota,

Clinical Parameters and Immune Function. **Frontiers in Veterinary Science**. v.7, p.613, 2020. Published 2020 Sep 4. doi:10.3389/fvets.2020.00613

SUCHODOLSKI J.S., DOWD S.E., WILKE V., et al. 16S rRNA gene pyrosequencing reveals bacterial dysbiosis in the duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. **PLoS ONE**, v.7, n.6, p.393-33, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0039333

TIZARD, I.R. **Veterinary immunology**. 9 ed . St. Louis: Elsevier Saunders, 2014.

VAN HERK, E.H.; VELDE, A.A.T. Treg subsets in inflammatory bowel disease and colorectal carcinoma: characteristics, role, and therapeutic targets. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 31, n. 8, p. 1393-1404, 2016.

WANG CS, LI WB, WANG HY, et al. VSL#3 can prevent ulcerative colitis-associated carcinogenesis in mice. **World Journal of Gastroenterol**, v.7, n,24(37), p.4254-4262, 2018. doi: 10.3748/wjg.v24.i37.4254. PMID: 30310258; PMCID: PMC6175759.

WHITE R, ATHERLY T, GUARD B, et al. Randomized, controlled trial evaluating the effect of multi-strain probiotic on the mucosal microbiota in canine idiopathic inflammatory bowel disease. **Gut Microbes**, v.3, n.8(5), p.451-466, 2017. doi: 10.1080/19490976.2017.1334754. Epub 2017 Jul 5. PMID: 28678609; PMCID: PMC5628651

WOPEREIS H, OOZEER R, KNIPPING K, et al. The first thousand days- intestinal microbiology of early life: establishing a symbiosis. **Pediatric Allergy and Immunology**, v.25, n.5, p.428-38, 2014

XENOULIS PG, PALCULICT B, ALLENSPACH K, et al. Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease. **FEMS Microbiology ecology**. Ecol. V.66, n.3, p.579–589, 2008.. doi:10.1111/j.1574-6941.2008.00556.x