



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**MICROBIOTA INTESTINAL E ATOPIA EM CÃES
REVISÃO DE LITERATURA**

Ana Carolina Santos Bernardes
Orientador: prof. Jair Duarte da Costa Júnior

BRASÍLIA - DF
FEVEREIRO/2023

ANA CAROLINA SANTOS BERNARDES

**MICROBIOTA INTESTINAL E ATOPIA EM CÃES
REVISÃO DE LITERATURA**

Trabalho de conclusão do programa de residência em clínica médica de pequenos animais apresentado junto à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília

Orientador: prof. Jair Duarte da Costa Júnior

BRASÍLIA – DF

FEVEREIRO/ 2023

Bernardes, Ana Carolina Santos

Microbiota intestinal e atopia em cães- Revisão de Literatura. / Ana Carolina Santos Bernardes;
orientação de Jair Costa Jr. – Brasília, 2023.

n. de p. : il.

Trabalho de conclusão do programa de residência em clínica médica de pequenos animais – Universidade
de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2023.

Nome do Autor: Ana Carolina Santos Bernardes

Título do Trabalho de Conclusão do Programa de Residência em Clínica
Médica de Pequenos Animais: Microbiota Intestinal e Atopia em Cães-
Revisão de Literatura

Ano: 2023

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias
desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para
propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se outros direitos de
publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem
a autorização por escrito do autor.

Ana Carolina Santos Bernardes

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do Autor: BERNARDES, Ana Carolina Santos

Título: Microbiota Intestinal e Atopia em Cães – Revisão de Literatura

Trabalho de conclusão do
programa de residência em
clínica médica de pequenos
animais apresentado junto à
Faculdade de Agronomia e
Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília

Aprovado em:

Banca Examinadora

Jair Duarte da Costa Júnior

Sabrina dos Santos Costa Poggiane

SUMÁRIO

1 -Introdução	8
2 - Atopia.....	9
3- Microbiota intestinal	9
3.1- Microbiota intestinal e patogenia da atopia	9
3.2- Disbiose intestinal.....	10
3.3- Metagenoma	11
3.4- Intestinos e sistema imunológico.....	12
3.5- Eixo pele-intestinos	13
3.6- Eixo neuroendócrino.....	13
4- Considerações Finais	14
Referências	15

RESUMO

Uma microbiota intestinal equilibrada promove mais do que um bom funcionamento dos intestinos. Estudos recentes com foco nos eixos pele-intestinos e neuroendócrino revelam que a comunicação entre intestinos e epitélio de outras regiões (como vias respiratórias e pele), e entre intestino e sistema nervoso central são estabelecidas pelos metabólitos, neurotransmissores e células do sistema imunológico que se desenvolvem e são produzidas pelos intestinos e sua microbiota. Uma microbiota intestinal diversificada e progressivamente adquirida desde o início da vida fora do útero, parece ser um dos fatores que diminuem os riscos de desbalanço imunológico sistêmico que pode contribuir com o surgimento da atopia.

Palavras-chave: bactérias intestinais, sistema imunológico, prurido, disbiose, metabólitos.

ABSTRACT

A balanced intestinal microbiome is essential to the good function of the intestines but also affects the whole body. Recent data found evidences of neuroendocrine molecules, metabolites such as short-chain fatty acids produced by the gut microbiome that affects the pulmonary epithelium, the skin epithelium, nervous system. Besides the great contribution for the self tolerance of the immune cels. These connections are known as gut-skin axis, gut-brain axis, gut-lung axis and immunomodulatory effects. A diverse gut microbiome acquired since the birth throughout the early stages of life seems to have a great role in the development of atopy.

Key words: pruritus, immune system, dysbiosis, metabolites.

1 -Introdução

A dermatite atópica é uma doença inflamatória crônica com predisposição genética e interação com fatores externos, que na maioria dos casos se apresenta como prurido intenso na pele, otite, podendo ou não ter sinais gastrointestinais. O diagnóstico é feito excluindo a dermatite alérgica a picada de ectoparasitas (DAPE), a hipersensibilidade trofoalérgica (também conhecida como hipersensibilidade alimentar), além das dermatites fúngicas. A atopia possui 2 grandes componentes: disfunção em epitélios (ouvidos, pele, intestinos) e resposta imune inadequada. Para ser considerada atopia, é necessária a prevalência de resposta Th2 que estimula a produção de IgE frente a alérgenos ambientais e alimentares. O tecido linfóide associado ao intestino é um dos locais com a mais alta concentração de células do sistema imunológico. Nos intestinos ocorre a tolerância ou resposta inflamatória aos diversos antígenos presentes neste órgão todos os dias. Estudos indicam a existência de uma relação entre intestinos e pele (*gut-skin axis*) que estabelece comunicação por meio da liberação para a circulação corporal de células imunológicas já sensibilizadas, compostos neuroendócrinos e metabólitos advindos da microbiota intestinal, além do tecido linfóide associado. Algumas destas substâncias produzidas pela microbiota intestinal já foram relacionadas com intensidade de prurido e diminuição de citocinas pró-inflamatórias. Além do eixo intestinos-pele, também há relação entre os intestinos e o sistema nervoso central (eixo neuroendócrino), pois a produção de ácido gama-aminobutírico (GABA), triptofano e serotonina intestinais, agem no sistema nervoso central interferindo na sensação de prurido e alterando a permeabilidade intestinal indiretamente. A homeostase destes eixos depende da microbiota intestinal saudável e esta tem ligação com exposição a microorganismos benéficos nas primeiras fases de desenvolvimento do filhote.

O presente trabalho tem como objetivo revisar as mais novas descobertas nos efeitos sistêmicos produzidos pela microbiota que povoa os intestinos. Especificamente nos efeitos sobre os sinais clínicos apresentados pela dermatite atópica canina.

2 - Atopia

A atopia é considerada uma doença por disfunção do sistema imunológico e quebra de barreiras cutâneas e epiteliais. Os sinais clínicos variam desde inflamação intestinal a sinais cutâneos (não somente mas especialmente interdígitos e intercoxins), otites, ceratoconjuntivite seca até sinais respiratórios como asma e rinite (ZANON, 2008). Fatores genéticos também são importantes no desenvolvimento da doença, mutações nas filagrinas, enfraquecem a barreira cutânea, tornando-a mais permeável à perda de umidade e entrada de alérgenos ambientais. Uma vez exposta aos alérgenos, a resposta inflamatória que predomina é a do tipo Th2 com degranulação de mastócitos estimulados pelos anticorpos IgE (TOMINAGA, 2022). A presença de *Clostridia* e *Eschechiria coli* nos intestinos foi associada a inflamações eosinofílicas (LEE, 2018).

3- Microbiota intestinal

3.1- Microbiota intestinal e patogenia da atopia

Estudos com microbiota intestinal humana revelaram que a diversidade e a quantidade de determinadas bactérias podem estar associadas ao desenvolvimento da dermatite atópica. Mesmo sendo uma doença multifatorial, os estudos indicam que a microbiota intestinal é fundamental na compreensão da patogênese desta condição. Outro fator se baseia na hipótese da higiene excessiva que impede que crianças tenham o contato necessário com microorganismos benéficos que farão parte da microbiota intestinal (SOA, 2008; LEE, 2018). Camundongos e leitões criados sem exposição à microorganismos, apresentam diminuição de linfócitos T-reguladores nos intestinos, o que propicia um desbalanço a favor da inflamação e falta de tolerância à antígenos alimentares (TIZARD, 2018; BOONPIYATHAD et al. 2020). Recentemente a teoria da higiene excessiva foi reformulada, criando a hipótese da microflora que aponta que os efeitos da exposição à microorganismos nas fases iniciais do desenvolvimento repercutiriam na homeostase ou desequilíbrio do sistema imunológico (inato e adquirido) por toda a vida (HEMIDA et al. 2021).

A genética é um fator que predispõe à dermatite atópica porém não é o único. O genótipo é o conjunto de genes que o indivíduo contém, entretanto, certos genes podem ou não ser expressados dependendo de fatores externos como hábitos alimentares, exposição ou não à alérgenos e medicamentos (CRAIG, 2016; JUSTINA, 2012). Sabe-se que animais criados sem exposição a microorganismos que influenciarão na formação e diversidade da microbiota intestinal tendem a expressar mais genes que induzem inflamação (resposta Th2 e Th17), enquanto tendem a expressar menos os genes que geram tolerância (resposta T regulatória) (TIZARD, 2018).

A filogenia e capacidade funcional da microbiota intestinal de cães e humanos se assemelham, apesar do cão se alocar na categoria de carnívoro não restrito, é possível haver extrapolações dos resultados entre os estudos. Quanto mais carnívoro o animal, menos ele depende da fermentação bacteriana de carboidratos e proteínas como fonte de energia (DENG & SWANSON, 2015). Assim como em humanos, a prevalência da atopia canina tem aumentado nos últimos anos e com apresentações clínicas semelhantes (CRAIG, 2016; HEMIDA et al. 2021).

Em um estudo conduzido por HEMIDA e colaboradores (2021), foi relatado que cães adultos tiveram maior incidência de sinais clínicos dermatológicos sugestivos de alergia e/ou atopia se quando filhotes foram alimentados predominantemente com comida processada (humana e veterinária), incluindo enlatados e alimentos com altos teores de açúcares. Em contrapartida, filhotes que foram alimentados entre os 2 a 6 meses de idade com vísceras e carne cruas e vegetais se mostraram menos propensos. Em hipótese, isto se deveu, em grande parte, à maior quantidade de microorganismos e vitaminas encontradas nestes alimentos, especialmente nos alimentos que não passaram por cocção.

Os tutores e seus cães compartilham microorganismos pelo contato direto e isso também se aplica à microbiota intestinal. A oferta de restos das refeições dos tutores aos filhotes parece ter funcionado como um probiótico, e já povoando a microbiota intestinal logo no início do desenvolvimento e amadurecimento deste sistema. Isso explicaria este fator ter sido relacionado com menores incidências de casos de atopia e/ou alergia quando na fase adulta (HEMIDA et al. 2021).

3.2- Disbiose intestinal

Quando a homeostase da microbiota intestinal é rompida, algumas espécies de microorganismos se aproveitam do desequilíbrio e aumentam a multiplicação. Certas espécies de bactérias produzem resíduo que dificultam a proliferação de outras espécies. Comumente os antibióticos sistêmicos são os principais medicamentos que levam à disbiose e consequente desequilíbrio intestinal (BLAKE, 2016).

A quebra da homeostase pode ocorrer mesmo em eventos agudos de diarreias. Quando comparadas amostras fecais de cães saudáveis com cães que apresentaram diarreia, *Bacteroidetes* e *Faecalibacterium* foram encontrados em menor quantidade. Enquanto a quantidade do gênero *Clostridium* estava aumentada (GUARD et al. 2015). Outros estudos que também utilizaram o método de cultura de amostras fecais também encontraram *Bacteroidetes* e *Faecalibacterium* em abundância em intestinos de cães saudáveis. Suchodolski e colaboradores (2022) com método de PCR (gene 16S rRNA) de amostras fecais confirmaram os mesmos resultados e ainda

estabeleceram os locais de maior abundância de *Faecalibacterium* e *Bacteroidetes* no íleo e cólon, respectivamente. Portanto, a redução destas bactérias pode representar uma disbiose intestinal. Além da redução em quantidade destes grupos de bactérias benéficas, Guard e colaboradores (2015) observou alteração nas quantidades de ácidos graxos de cadeia curta nas fezes. O ácido propiônico estava em menor quantidade, mas o butirato estava mais abundante. Durante processo inflamatório intestinal o butirato pode ser subutilizado pelos enterócitos e isso explicaria sua maior perda nas fezes. E a redução do gênero *Faecalibacterium* pode ser a explicação para a baixa concentração de ácido propiônico. Os ácidos graxos de cadeia curta promovem melhor barreira intestinal, estimulando a produção do muco e sendo fonte de energia aos enterócitos. A barreira intestinal com maior permeabilidade predispõe exposição inadequada do conteúdo do lúmen às camadas intestinais abaixo da mucosa. Esta exposição sem o adequado processamento e apresentação de antígeno por células especializadas pode desencadear resposta inflamatória que pode se manter em uma reação local de hipersensibilidade trofoalérgica ou se tornar sistêmica pela migração de células imunológicas sensibilizadas pelos vasos linfáticos e sanguíneos. Promovendo sinais clínicos gastrointestinais como diarreia, vômito, hiporexia e sinais cutâneos.

3.3- Metagenoma

Metagenoma é caracterizado como material genético coletado de um ambiente onde várias espécies de microorganismos convivem. Este ambiente pode ser inclusive coletado do lúmen intestinal e desta forma, são identificados os fragmentos de genes tanto de microorganismos quanto do hospedeiro. Estes fragmentos serão então analisados e estipulados que tipo de proteínas eles codificam (WOOLEY, 2010; HUGENHOLTZ, 2008). Tais métodos estão sendo muito utilizados para se entender melhor a interação entre microbiota e hospedeiro e também para vislumbrar bactérias, fungos e vírus que não são cultiváveis em culturas ou que estão presentes em tão pequena quantidade que passariam despercebidas (WOOLEY, 2010; HUGENHOLTZ, 2008).

Com o estudo do metagenoma, novas descobertas foram possíveis como identificação de organismos que devido à forte adaptação e simbiose com o hospedeiro não seriam cultiváveis em laboratório. A adaptação dos microorganismos ao hospedeiro significa que as condições ideais para o crescimento e multiplicação se encontram dentro do organismo em que ele habita. Temperatura, pH, variabilidade e disponibilidade de nutrientes ideais são as do interior do hospedeiro e nem sempre estas condições são replicáveis em culturas *in vitro*. Mudanças nos hábitos do hospedeiro podem afetar diretamente a população microscópica em seu trato gastrointestinal, selecionando microorganismos que melhor se adaptem às novas condições do meio. A dieta é uma das variáveis que melhor ilustra esta alteração de microbiota. Em estudo do metagenoma da microbiota de camundongos obesos foi constatado maior quantidade de enzimas

ligada à aquisição de energia de carboidratos quando comparados aos camundongos magros. O hospedeiro muda seus hábitos, altera o habitat dos microorganismos, seleciona os indivíduos que melhor respondem às novas condições e em contrapartida os microorganismos também podem ser responsáveis por alterações metabólicas e fenotípicas do hospedeiro que refletem em seu estado de saúde (WOOLEY, 2010).

O estudo desenvolvido por WOOLEY (2010) atribuiu alguns metagenomas à cães com diarreia aguda e outros a cães saudáveis. O material genético ligado ao metabolismo e fosforilação oxidativa de metano e codificação de catalisadores no processo de dobramento de chaperonas foram associados à cães com microbiota saudável. Enquanto outros ligados à motilidade bacteriana e codificação de flagelos foram associados à cães com diarreia aguda.

3.4- Intestinos e sistema imunológico

Nos intestinos ocorrem a maior parte das atividades do sistema imunológico, onde cerca de 80% dos linfócitos B ativados estão localizados (TIZARD, 2018).

As doenças alérgicas podem ser descritas como um desequilíbrio entre as respostas imunológicas do tipo 2 e as respostas imunológicas de células T regulatórias. Quando prevalece a resposta do tipo 2 a consequência é inflamação, mas quando a resposta imunológica predominante é derivada de células T regulatórias há modulação da inflamação, diminuindo os efeitos inflamatórios. Um dos principais meios pelos quais o sistema imunológico manifesta certa tolerância antigênica se dá pela exposição oral. As tonsilas e os intestinos são locais onde as células que não foram expostas a antígenos e, portanto, não ativadas (naïve) terão contato com antígenos alimentares e bacterianos aos quais não terão que montar resposta inflamatória e criar tolerância. Em outras palavras, o contato das células imunológicas com estes antígenos, idealmente, deve gerar linfócitos T reguladores que migram pelo sistema linfático induzindo tolerância sistêmica, retardando o aparecimento de dermatites e prurido por reação de hipersensibilidade, um dos quadros característicos da atopia (BOONPIYATHAD et al. 2020).

Além da atuação no sistema imunológico adquirido, o sistema imunológico inato também é influenciado e tem sua função mais eficiente quando há simbiose entre bactérias e intestinos. Os ácidos graxos de cadeia curta produzidos pela fermentação bacteriana são fonte de energia para os enterócitos e estimulam a produção de mucina, que integra a camada de muco que recobre os intestinos (PEREIRA, 2021). Com suplementação de *Lactobacillus* associado aos *Enterococcus* foi observado o aumento na produção de ácidos graxos de cadeia curta que se relacionam com a melhora na barreira mucosa intestinal (KIM, 2019). Outras bactérias como *Faecalibacterium*

prausnitzii, *Eubacterium rectale*, *Eubacterium hallii*, e *Ruminococcus bromii* também são produtoras destes ácidos graxos de cadeia curta (BLAKE, 2016).

3.5- Eixo pele-intestinos

Em estudo com camundongos e humanos, a suplementação com *Lactobacillus casei* reduziu citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-12, IL-17, IFN- γ e TNF- α) e aumentou os níveis de IL-10 e TGF- β , que são citocinas anti-inflamatórias. A citocina TGF- β em outros estudos foi relacionada com uma boa integridade da barreira epitelial e por isso diminuiria a perda de umidade da pele (SOA, 2008; KIM, 2019; KWON, 2010). O ressecamento da pele é um dos fatores que pode gerar e perpetuar o prurido pelo aumento da densidade de terminações nervosas intraepidérmicas (TOMINAGA, 2022).

Outro estudo em camundongos, desta vez suplementando *Lactobacillus reuteri*, observou benefícios à barreira cutânea, pois aumentou a concentração de IL-10 sérica e reduziu a IL-17. Este aumento da citocina foi relacionado a maior espessura da pele, maior maturação de folículos pilosos, redução do pH cutâneo e aumento da produção de sebócitos (O'NEILL, 2016).

3.6- Eixo neuroendócrino

Neurotransmissores e neuromoduladores produzidos pela microbiota intestinal alteram de forma indireta a barreira cutânea e a sensação do prurido quando alcançam o sistema nervoso central (O'NEILL, 2016).

O triptofano produzido pela microbiota intestinal parece estar relacionado ao aumento da sensação de prurido. Enquanto a produção de GABA por espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* promovem a redução do prurido. Durante situações de estresse, o cortisol liberado pode alterar a permeabilidade da mucosa intestinal, causando maior absorção das substâncias produzidas pelas bactérias intestinais ocasionando maiores concentrações de triptofano e serotonina circulantes que refletem no grau de prurido cutâneo (LEE, 2018).

Em humanos com atopia, a suplementação com *Bifidobacterium* aumentou a produção de ácido quinurênico, composto com efeitos neuroativos que reduziu o prurido nos indivíduos estudados (KIM, 2019).

4- Considerações Finais

Pensar na fisiopatologia da dermatite atópica como uma doença com envolvimento de múltiplos sistemas interligados e que mantêm a conexão de forma intrincada e complexa, é promissor para o melhor entendimento e para o controle da doença. Novas técnicas que permitem compreender a simbiose dos microorganismos intestinais e seu hospedeiro como a análise de metagenoma podem trazer novas formas de tratamentos e cuidados para os pacientes atópicos. Entendendo como esta relação funciona quando em homeostase pode servir para descobrir e ajustar a falha de homeostase da atopia de cada indivíduo. Tratar, suplementar o que falta em cada indivíduo para alcançar a homeostase com bactérias e metabólitos específicos parece ser a evolução do tratamento da atopia.

Referências

- SOA, J. S. ; LEEA, C. G.; KWONA, H.K.; YIA, H.J. et al. Lactobacillus casei potentiates induction of oral tolerance in experimental arthritis, *Molecular Immunology*, Volume 46, Issue 1, November 2008, Pages 172-180.
- LEE, S. Y. et al. Microbiome in the Gut-Skin Axis in Atopic Dermatitis, *Allergy, Asthma & Immunology Research* 2018; 10(4): 354-362.
- KIM, J. E and KIM, H. S. Microbiome of the Skin and Gut in Atopic Dermatitis (AD): Understanding the Pathophysiology and Finding Novel Management Strategies *J. Clin. Med.* 2019, 8, 444; doi:10.3390.
- KWON, H.K.; LEE, C.G.; SO, J.S.; CHAE, C.S.; HWANG, J.S.; SAHOO, A.; NAM, J.H.; RHEE, J.H.; HWANG, K.C.; IM, S.H. Generation of regulatory dendritic cells and CD4⁺Foxp3⁺ T cells by probiotics administration suppresses immune disorders. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010, 107, 2159–2164.
- DANG, P. ; SWASON, K. S. Gut microbiota of humans, dogs and cats: current knowledge and future opportunities and challenges. *British Journal of Nutrition* (2015), 113, S6–S17.
- BOONPIYATHAD, T.; SÖZENER, Z. C.; AKDIS, M.; AKDIS, C. A. The Role of Treg cell Subsets in Allergic Disease, *Asian Pac J Allergy Immunol* 2020;38:139-149 DOI 10.12932/AP-030220-0754.
- PEREIRA, A. M.; CLEMENTE, A. Dogs' Microbiome From Tip to Toe, *Topics in Companion An Med* 45 (2021).
- HEMIDA, M. B. M.; SALIN, S.; VUORI, K. A. et al. Puppyhood diet as a factor in the development of owner-reported allergy/atopy skin signs in adult dogs in Finland. *Vet Intern Med. (ACVIM)* 2021; 35:2374–2383.
- CRAIG, J. M. *Veterinary Medicine and Science* Published by John Wiley & Sons Ltd. 95 *Veterinary Medicine and Science* (2016), 2, pp. 95–105.
- JUSTINA, L. A. D.; MEGLHIORATTI, F. A.; CALDEIRA, A. M. A. A (re)construção de conceitos biológicos na formação inicial de professores e proposição de um modelo explicativo para a relação genótipo e fenótipo. *Revista Ensaio*, v. 14, n. 03, p.65-84, 2012.
- BLAKE, A. B.; SUCHODOLSKI, J. S. Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats, *Animal Frontiers*, Vol. 6, No. 3, 2016.
- GUARD, B. C.; BARR, J. W.; REDDIVIARI, L. et al. Characterization of Microbial Dysbiosis and Metabolomic Changes in Dogs with Acute Diarrhea, *PLOS ONE*, DOI:10.1371/journal.pone.0127259, 2015.
- WOOLEY, J. C.; GODZIK, A.; FRIEDBERG, I. A Primer on Metagenomics, *PLOS Computational Biology*, 2010, 6(2): e1000667. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000667>
- HUGENHOLTZ, P.; TYSON, G. Metagenomics. *Nature* 455, 481–483 (2008). Disponível em: <https://doi.org/10.1038/455481a>

TIZARD, I. JONES, S. W. The Microbiota Regulates Immunity and Immunologic Diseases in Dogs and Cats, *Vet Clin Small Anim*, v. 48, 2, p. 307-322, 2018.

O'NEILL, C. A.; MONTELEONE, G.; McLAUGHLIN, J. T.; PAUS, R. The gut-skin axis in health and disease: A paradigm with therapeutic implications, *Bioessays* 38: 1167–1176, 2016 WILEY Periodicals, Inc.

SUCHODOLSKI, J. S. ; CAMACHO, J.; STEINER, J. M. Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis, *FEMS Microbiol Ecol* 66 (2008) 567–578.

TOMINAGA, M.; TAKAMORI, K. Peripheral itch sensitization in atopic dermatitis, *Japanese Society of Allergology*. Production and hosting by Elsevier B.V. Artigo disponível em: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ZANON, J. P.; GOMES, L. A.; CURY, G. M. M. et al. Dermatite atópica canina, *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 29, n. 4, p. 905-920, out./dez. 2008.