



Departamento de Genética
USP Ribeirão Preto-FMRP



MICROBIOMA HUMANO E PERSPECTIVAS

Aparecida Maria Fontes

Ribeirão Preto – Março/ 2018

aparecidamfontes@usp.br

Conteúdos Principais:

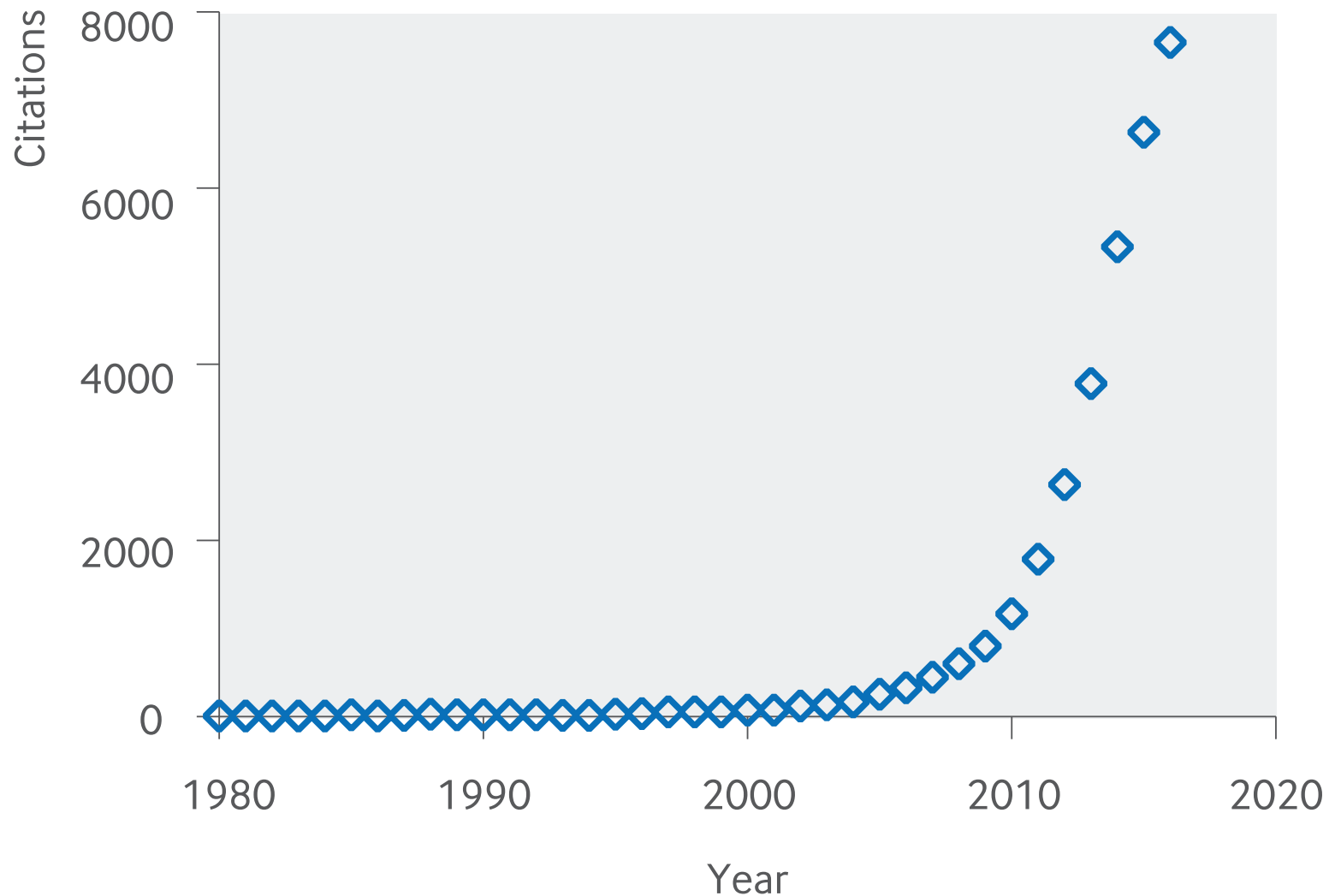
- Microbiota e Microbioma
- Métodos para estudar estrutura e função do microbiota
- Projeto Microbioma Humano
- Microbioma do Trato Gastro Intestinal
- Microbioma e Epigenética
- Microbioma e susceptibilidade a doenças genéticas
- Microbioma e Perspectivas
- Exercícios

Microbioma x Microbiota

Qual a diferença entre Microbioma e Microbiota?

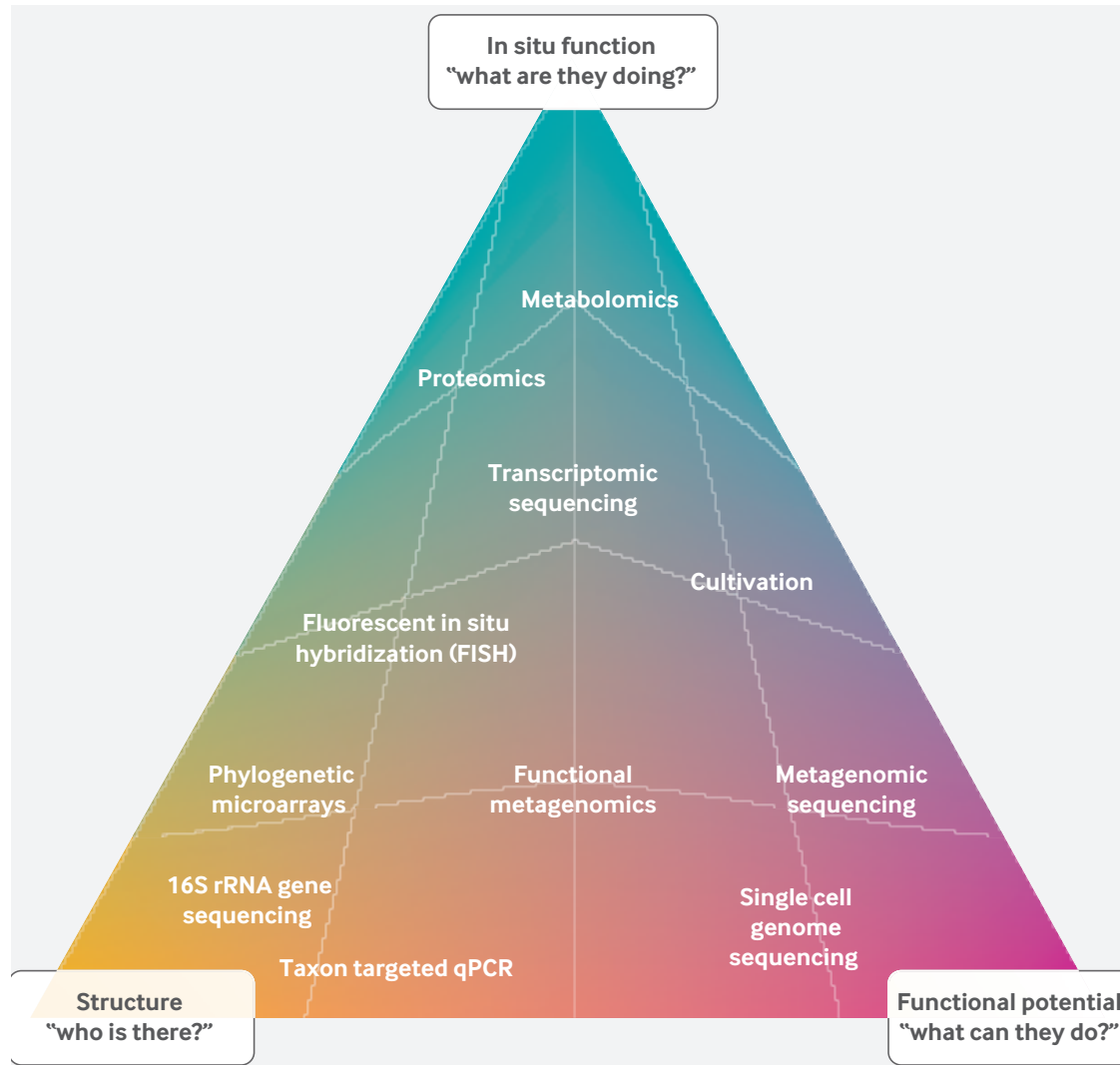
- ❑ Microbiota é o conjunto de microorganismos que compõem um determinado ambiente.
- ❑ No caso do Microbiota humano saudável é composto por diversos ecossistemas microbianos complexos e a estimativa é de 10^{14} células microbiomas que habitam o corpo humano.
- ❑ Microbioma diz respeito aos genes que constituem o genoma do grupo de microorganismos que habitam aquele local.

Publicações em microbioma



Microbioma x Microbiota

Quais os métodos para estudar estrutura e função do microbiota?



Young 2017
BMJ 356:j831

Projeto Microbioma Humano

O Que é o Projeto Microbioma Humano?

- ❑ Um consórcio que envolve 45 Instituições de pesquisa e iniciado em 2008. Tem como objetivo caracterizar as comunidades microbianas encontradas em várias partes do corpo humano e analisar o papel desses micróbios na saúde humana e nas patologias.



- ◆ Estão sendo analisadas 30,000 amostras de 48 locais do corpo humano .

[home](#) > [resources](#) > tools and technology

Tools and Technology

Tools

Protocols >

Walkthroughs >

Tools

Software and online resources used by, or developed as part of the HMP are provided here.

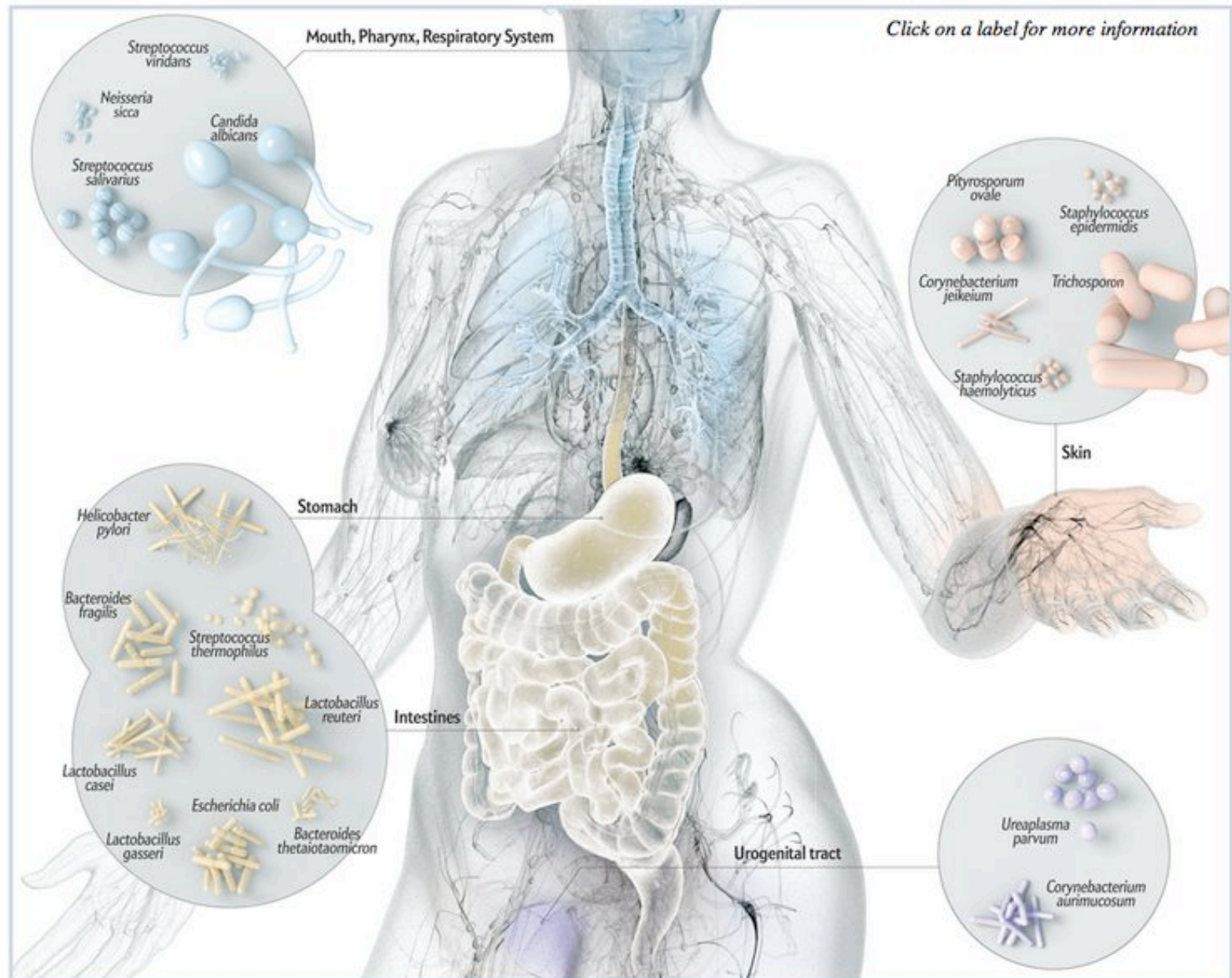
Please be aware that HMP1 funding ended in 2012, and therefore some of these resources may have changed, moved or been discontinued. This list is no longer regularly maintained.

Microbial Reference Genomes

Sampling, Sequencing, & Analyses of 16S RNA

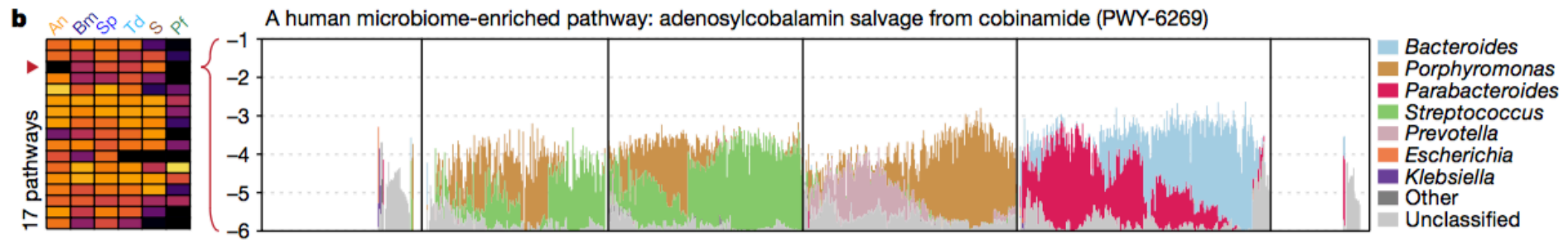
Sampling, Sequencing & Analysis of Whole Metagenomic Sequence

Microbioma Humano

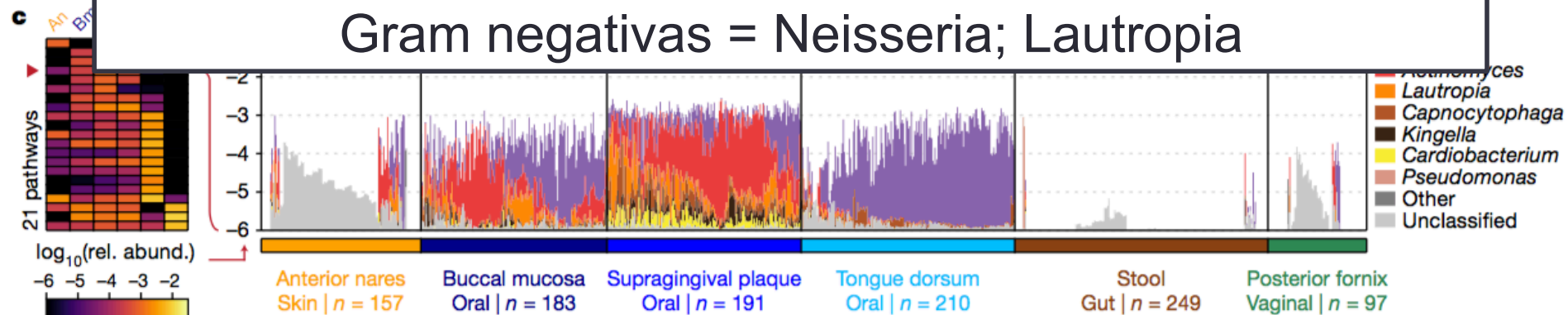


Microbioma Humano

Gram positivas anaeróbicas = Actinobactérias



Gram negativas = Neisseria; Lautropia



Strains, functions and dynamics in the expanded Human Microbiome Project

Lloyd-Price et al 2017 Nature online

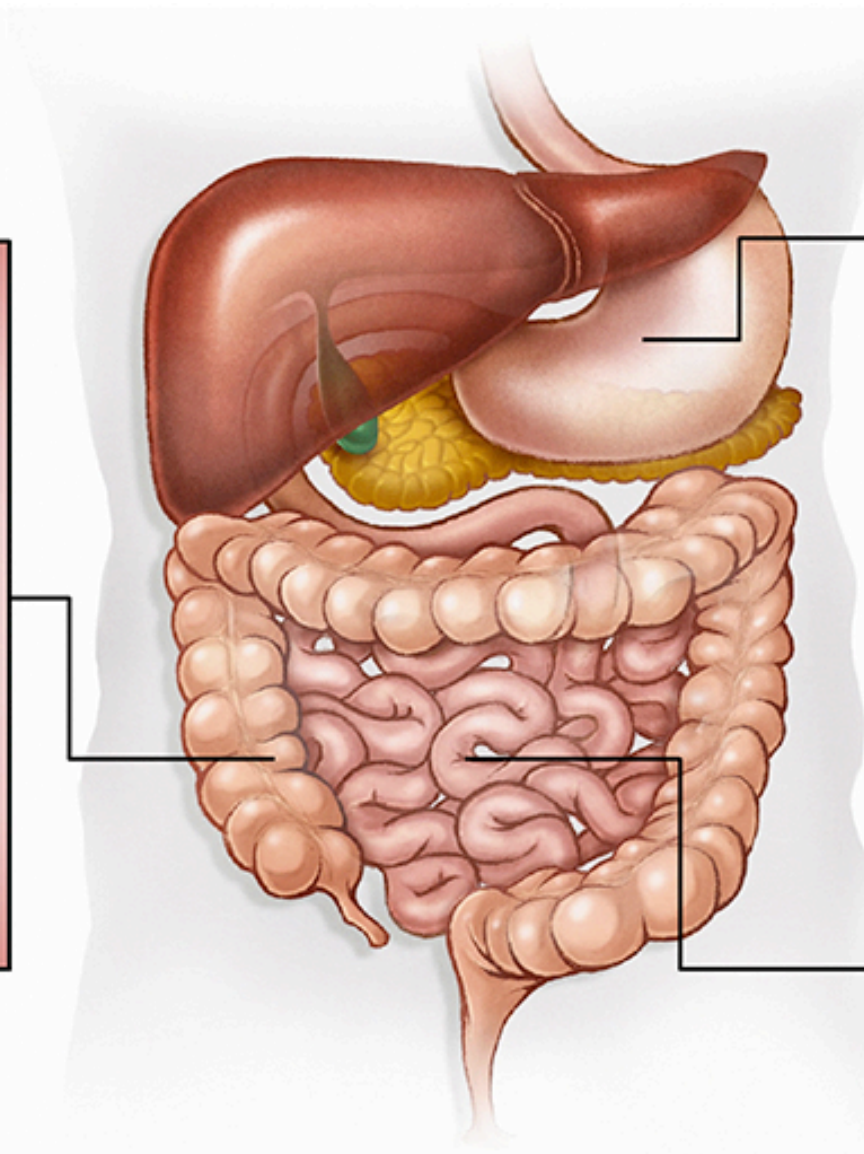
MICROBIOMA DO TRATO GASTROINTESTINAL

Microbioma trato gastrointestinal

Qual é o período do desenvolvimento humano que ocorre a formação do microbiota do trato gastrointestinal?

- ☐ A colonização do microbioma humano inicia-se algumas horas após o parto.
- ☐ Do nascimento aos 3 anos de idade é o período em que ocorre a colonização do trato gastro-intestinal de forma contínua e progressiva, com aumento gradual da diversidade filogenética.
- ☐ A amamentação influencia o tipo de colonização intestinal.
- ☐ A introdução dos alimentos sólidos está associado com o aumento da abundância de Bacteroidetes e uma mudança que facilita a utilização do lactato, carbodidrato, biosíntese de vitamina e degradação de xenobióticos.

Microbioma trato gastrointestinal



Colon

$> 10^{11}$ bacteria mL^{-1}

Alistipes spp.
Anaerostipes spp.
Bacteroides spp.
Bifidobacterium spp.
Clostridium cluster spp.
Dorea spp.
Eubacterium spp.
Faecalibacterium spp.
Parabacteroides spp.
Roseburia spp.
Ruminococcus spp.

Stomach

$10^2 - 10^4$ bacteria mL^{-1}

Lactobacillus spp.
Propionibacterium spp.
Streptococcus spp.
Staphylococcus spp.

Small intestine

$10^7 - 10^8$ bacteria mL^{-1}

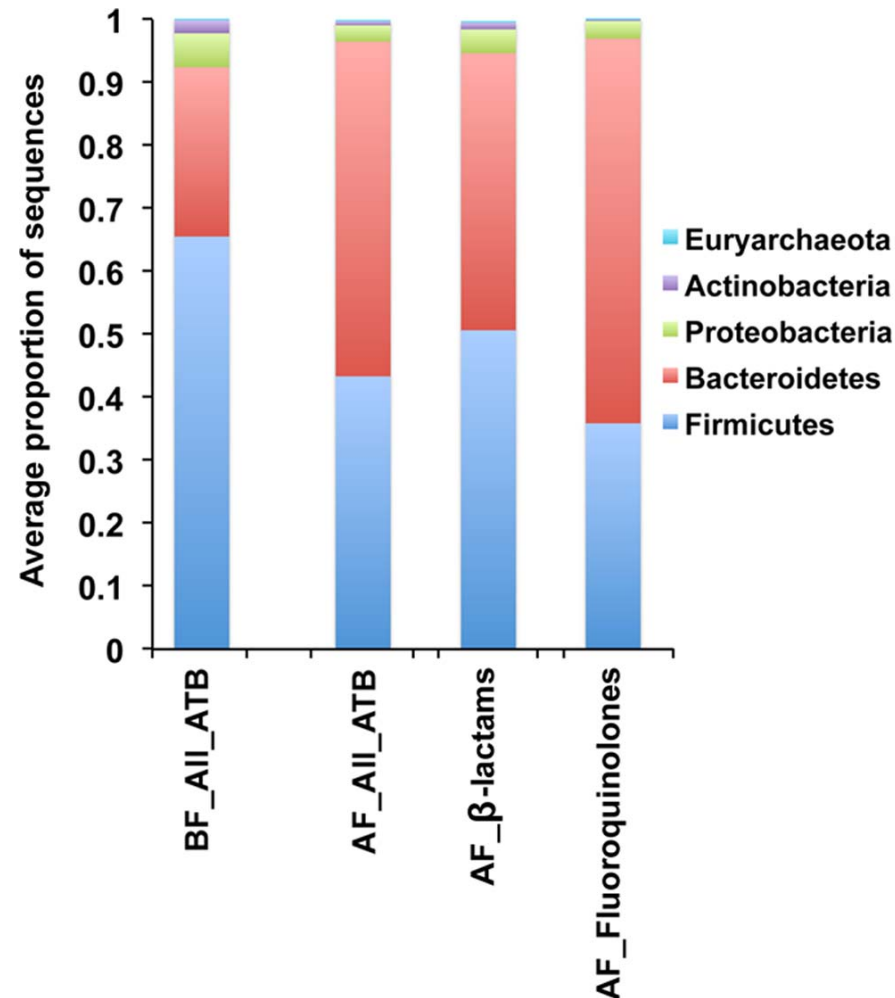
Escherichia spp.
Bacteroides spp.
Clostridium cluster XIVa spp.
Lactobacillus spp.
Streptococcus spp.
Veillonella spp.

Microbioma trato gastrointestinal

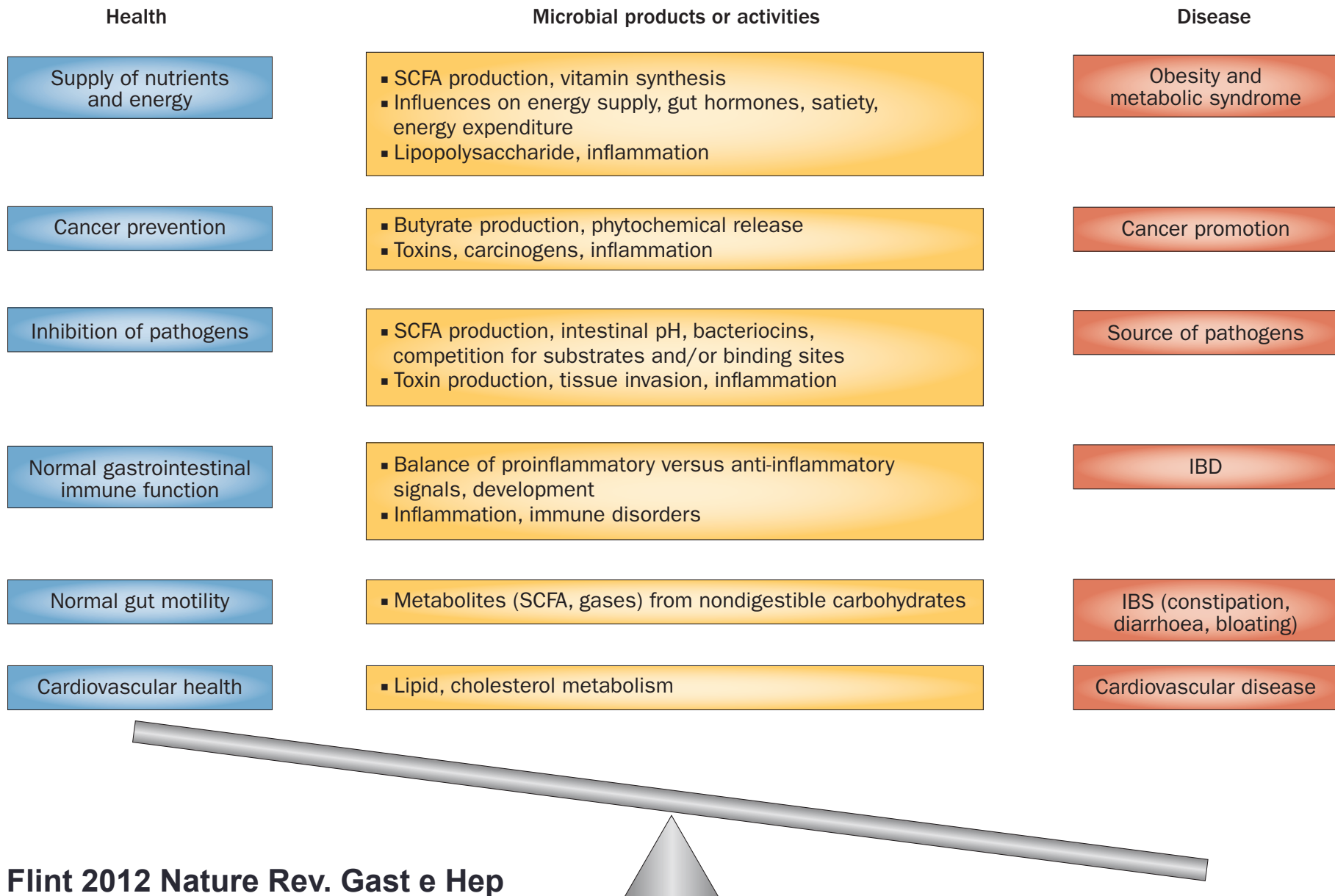
Qual a consequência do uso de antibióticos?

- ❑ O uso de antibióticos induz uma diminuição da diversidade microbiana e um aumento no crescimento de espécies resistentes.
- ❑ Perturbações do ecossistema microbiano intestinal nos primeiros três anos de vida combinado com a susceptibilidade genética tem um impacto a longo prazo no sistema imunológico levando a predisposição de diversas doenças:
 - ❖ Doença inflamatória de Bowel
 - ❖ Doenças metabólicas: Diabetes tipo 2 e obesidade

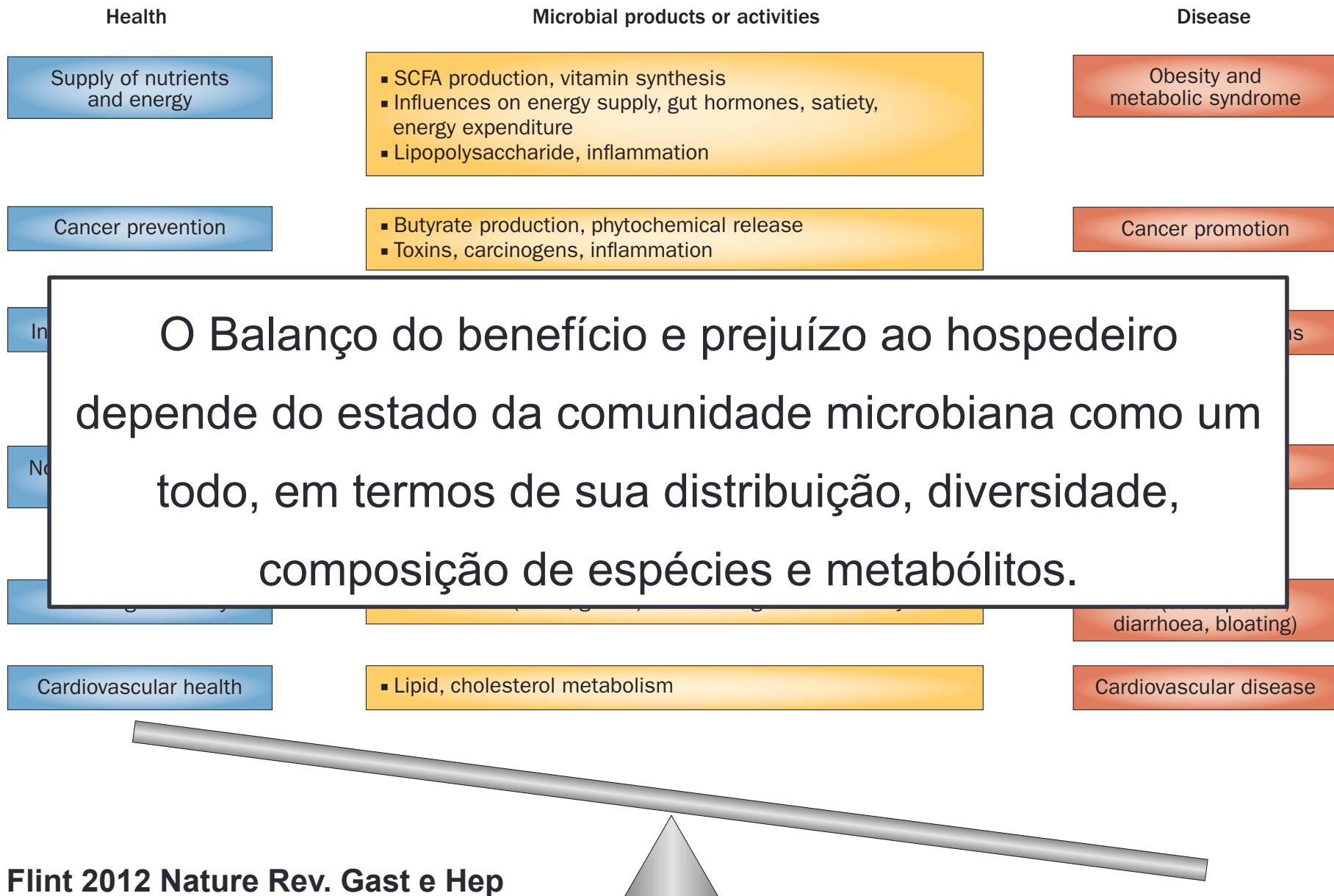
Diferenças do microbioma fecal antes e após o tratamento com antibiótico



Função do microbioma do intestino



Função do microbioma do intestino



Microbiota do Intestino

Doença

Helicobacter pylori
Clostridium perfringens
Clostridium difficile

Saúde

Bifidobacterium bifidum
Bifidobacterium breve
Bifidobacterium longum ssp

O Microbioma do intestino é cerca de 150 vezes maior que o genoma humano, com cerca de 3.3 milhões de genes bacterianos

Prevotella
Escherichia coli

Eubacterium sp
Faecalibacterium prausnitzii

Doenças autoimunes
Doenças alérgicas
Úlceras
Cancer colorretal
***Enterocoliti* necrotizante**
Obesidade



Imunomodulação
Inibição de infecção de patógenos
Resistência a Diabetes
Digestão/ absorção de alimentos
Síntese de vitaminas

MICROBIOMA E EPIGENÉTICA

Microbioma e mecanismos epigenéticos

Metabólitos produzidos pelo microbioma podem afetar o epigenoma e expressão gênica do hospedeiro?

- ❑ Sim. Metabólitos de baixo peso molecular produzidos pelo metabolismo microbiano, como por exemplo, moléculas de ácido graxo de cadeia curta (AGCCs), betaina, triptofano, bile, álcoois e neuropeptídeos.

Quais os principais AGCCs e quais suas origens?

- ❑ Acetato, propionato e butirato, os quais são produzidos pela quebra de fibras alimentares e carboidratos complexos.
- ❑ *Firmicutes* são as bactérias mais importantes produtoras de butirato.

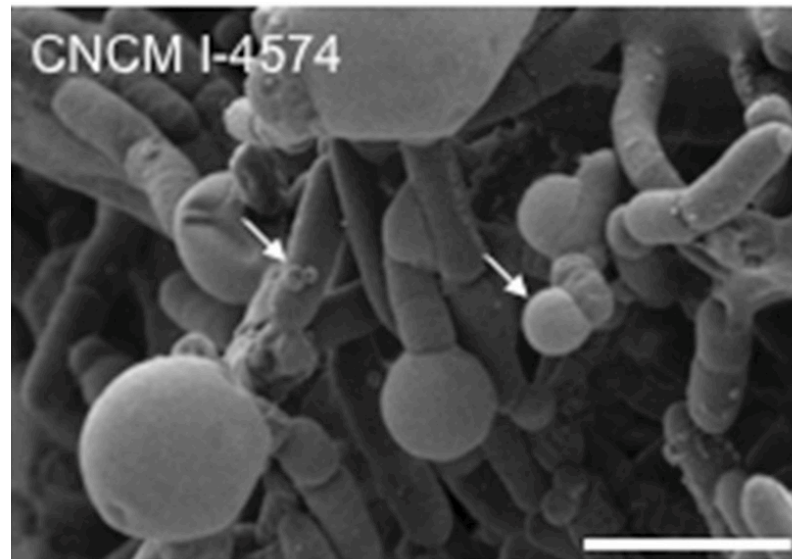
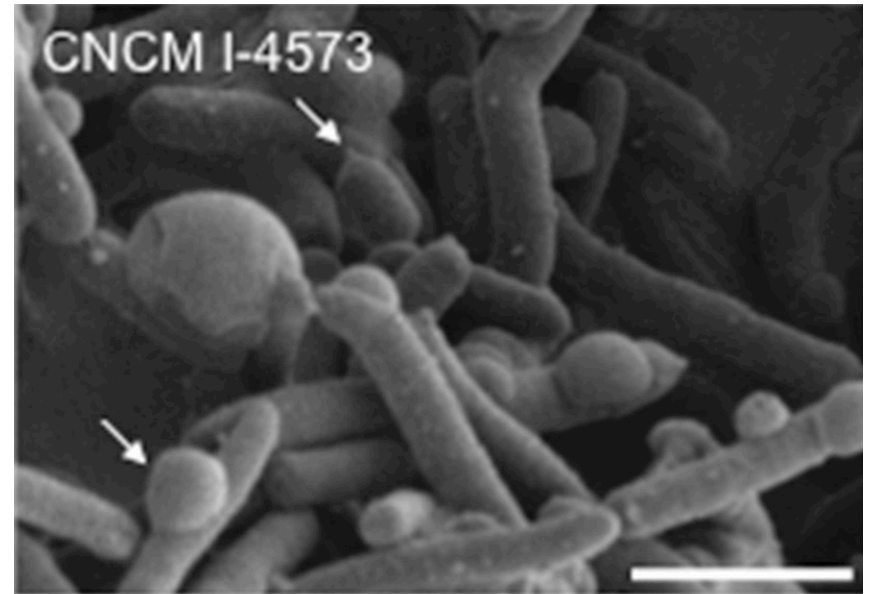
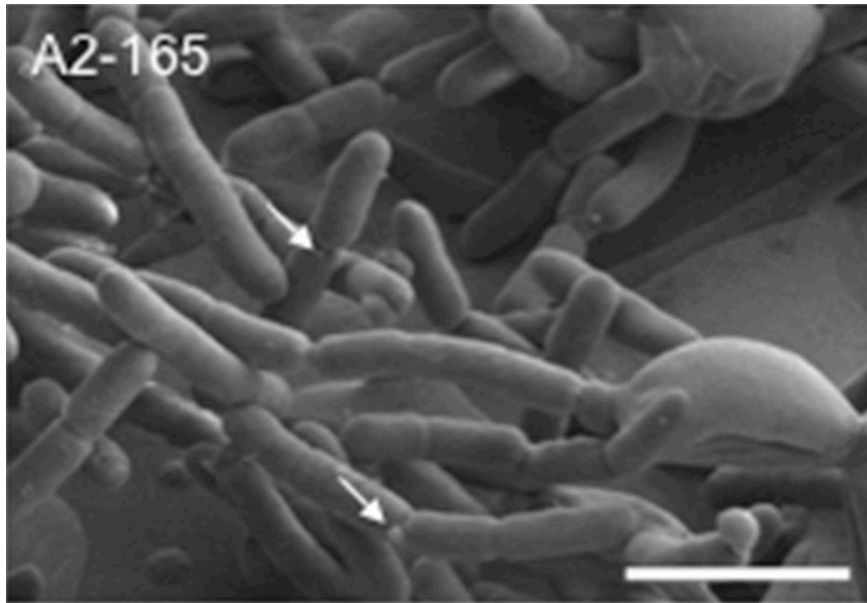
Microbioma e mecanismos epigenéticos

Metabólito	Mecanismos epigenéticos	Efeitos fisiológicos	Grupos bacterianos associados com via metabólica
SCFA: butirato, acetato, propionato, fumarato, valerato, caproale	Modificações de histonas	Prevenção de câncer e terapia anti-inflamatória	Fermicutes, <i>particularmente: Faecalilbacterium prausnitzii, Eubacterium rectale</i> e <i>Roseburia ssp</i>

Como detectar *Faecalilbacterium prausnitzii*?

Primer	Oligonucleotide sequence (5'–3')	PCR product size (bp)	Use
FP3	GTTGCGGGACTTAACCCAACATC		16S rRNA sequencing
FP4	GTTTTTCTTGAGTAGTGCAGAGG		16S rRNA sequencing
FP5	GATGTTGGGTAAAGTCCCGCAAC		16S rRNA sequencing

Microscopia de varredura: *Faecalibacterium prausnitzii*

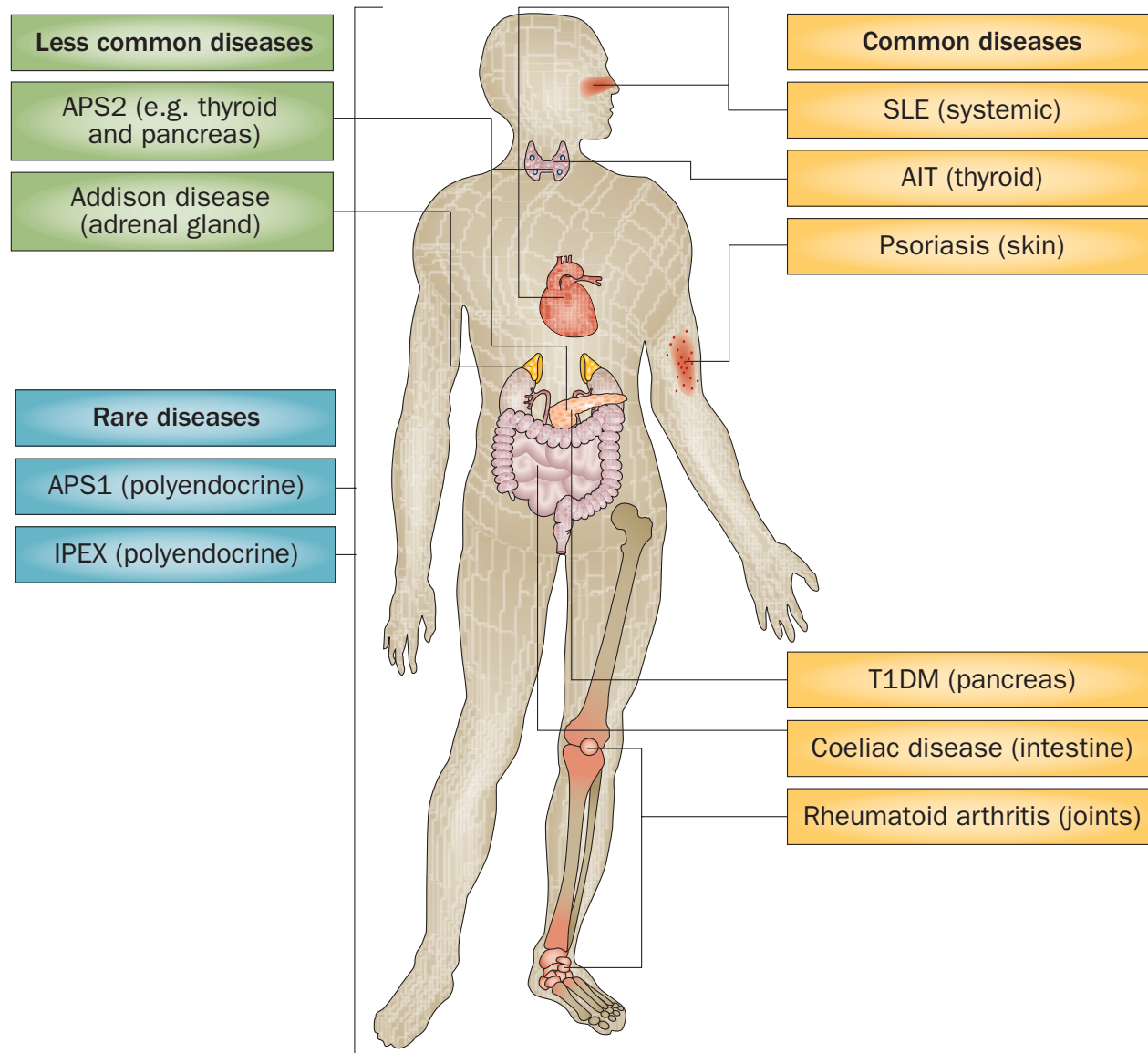


Microbioma e mecanismos epigenéticos

Metabólito	Mecanismos epigenéticos	Efeitos fisiológicos	Grupos bacterianos associados com via metabólica
Betaína, colina e etanolamina	Metilação DNA	Desenvolvimento e função do cérebro fetal e diminuir fatores de risco para doenças cardiovasculares	<i>E. coli</i>
Ácido biliares livres: ácido deoxicólico	Hipometilação do DNA e sinalização b-catenina	Progressão do câncer	Desconhecido: uma mudança induzida pelo antibiótico
Neuropeptídeos: GABA, serotonina e 4-etilfenilsulfato	Aumento da expressão do receptor GABA	Proteção da depressão e ansiedade	Bifidobacteria, <i>Lactobacillus ssp</i>

MICROBIOMA E DOENÇAS GENÉTICAS

Doenças auto-imunes



Zhernakova et al, 2013 *in* Nature Rev. Endocrinology.

Doenças auto-imunes

Disease	Clinical features and pathogenesis	Genetics	Autoantibodies
Autoimmune thyroid disease	Graves disease: autoimmune reaction to the receptor for TSH, clinically manifested as chronic hyperthyroidism Hashimoto thyroiditis: autoimmune response against thyroid peroxidase and thyroglobulin, clinically manifested as chronic hypothyroidism	HLA Class II: DR3 (DRB1*03; DRB1*Arg74) DR4 (in Hashimoto thyroiditis) 13 non-HLA loci	Thyroid peroxidase antibodies Thyroglobulin antibodies TSH receptor antibodies Sodium iodide symporter

- ❑ As doenças auto-imune da tireóide estão fortemente associadas com alelos específicos HLA classe II.
- ❑ Estudos mais recentes tem mostrado a predisposição para essa doença em outros loci não HLA .
- ❑ Uma série de estudos sugerem que fatores ambientais tem um papel crítico no desenvolvimento de tireodite de Hashimoto em indivíduos geneticamente susceptíveis.
- ❑ Entre esses fatores temos: infecção viral e excesso de iodo na alimentação.

Doenças auto-imunes

Disease	Clinical features and pathogenesis	Genetics	Autoantibodies
Autoimmune thyroid disease	Graves disease: autoimmune reaction to the receptor for TSH, clinically manifested as chronic hyperthyroidism Hashimoto thyroiditis: autoimmune response against thyroid peroxidase and thyroglobulin, clinically manifested as chronic hypothyroidism	HLA Class II: DR3 (DRB1*03; DRB1*Arg74) DR4 (in Hashimoto thyroiditis) 13 non-HLA loci	Thyroid peroxidase antibodies Thyroglobulin antibodies TSH receptor antibodies Sodium iodide symporter

- ❑ Outros estudos mostraram que alterações morfológicas nas células epiteliais do intestino, aumento da permeabilidade intestinal tem sido observado em pacientes com tireodite de Hashimoto.
- ❑ Essas alterações rompem a barreira mucosa e tornam o tecido mais exposto a bactérias patogênicas e não patogênicas e tem sido detectado em pacientes com essa doença.

O sequenciamento de última geração permitirá caracterizar as comunidades microbianas e a mudança de sua composição durante o desenvolvimento, progressão e tratamento da doença.

MICROBIOMA E PERSPECTIVAS

Microbioma e perspectivas

O Que são os probióticos?

- ☐ Microorganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro.

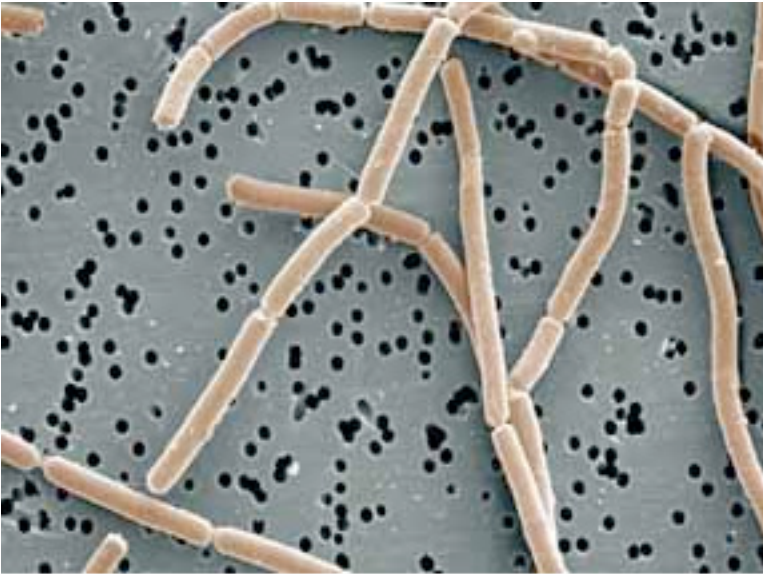
Quais os principais mecanismos de ação dos probióticos?

- ☐ Proteção contra bactérias patogênicas.
- ☐ Redução do pH.
- ☐ Competição por nutrientes.
- ☐ Capacidade imunoestimuladora.

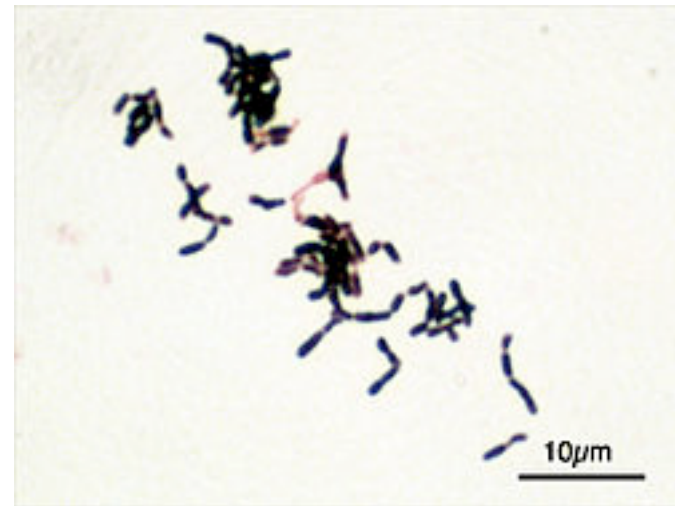
Microbioma e perspectivas

Quais os probióticos mais utilizados?

❑ *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*.



Lactobacillus bulgaricus



Bifidobacterium adolescentis

Microbioma e perspectivas

O Que são os prebióticos?

- ❑ Ingredientes não digeríveis que beneficiam a saúde do hospedeiro estimulando seletivamente o crescimento ou atividade de um certo número de bactérias.

Quais os principais mecanismos de ação dos prebióticos?

- ❑ Funcionam como substratos para os probióticos obtendo-se assim uma relação simbiótica, melhorando a continuidade de bactérias no intestino.
- ❑ Os prebióticos mais comuns são: oligofrutose, inulina, lactulose e galacto-oligossacarídeos.

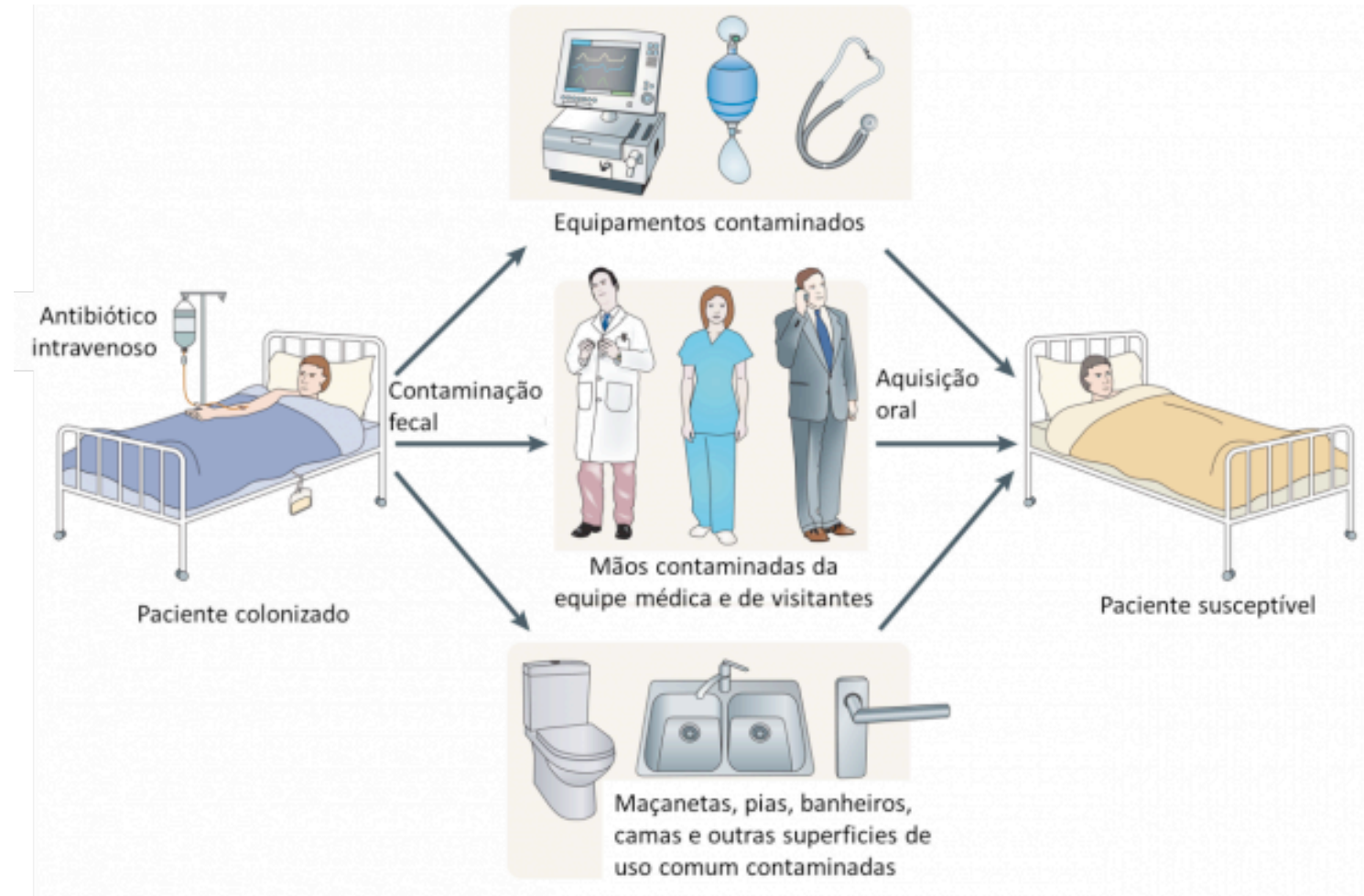
Microbioma e perspectivas

O elevado investimento científico nos campos do microbiota e microbioma humanos deverá resultar no desenvolvimento e melhoria de estratégias terapêuticas futuras



Microbioma hospitalar

Microbioma hospitalar



- ❑ A contaminação cruzada que ocorre com elevada frequência no ambiente hospitalar é responsável por manter os microorganismos em circulação naquele ambiente.

Exercícios

1. A função dos microorganismos pode ser estudada por qual técnica?

- (A) Metagenômica
- (B) Metaproteômica
- (C) Metatranscrição

2. Quais microorganismos compõem o microbioma?

- (A) Todos abaixo
- (B) Bactéria
- (C) Fungo
- (D) Protozoários
- (E) Vírus

Exercícios

3. Em média quantas bactérias estão presentes no corpo humano?

- (A) 100 bilhões
- (B) 100 milhões
- (C) 100 mil
- (D) 100 trilhões

4. O que é objetivo do projeto microbioma hospitalar?

- (A) Caracterizar a comunidade bacteriana de um hospital
- (B) Compreender as consequências da limpeza e esterilização
- (C) Todas afirmativas
- (D) Caracterizar a composição taxonômica das comunidades microbianas associadas com superfície, ar, água e humanos

Exercícios

1. A função dos microorganismos pode ser estudada por qual técnica?

- (A) Metagenômica
- (B) Metaproteômica
- (C) Metatranscrição

2. Quais microorganismos compõem o microbioma?

- (A) Todos abaixo
- (B) Bactéria
- (C) Fungo
- (D) Protozoários
- (E) Vírus

Exercícios

3. Em média quantas bactérias estão presentes no corpo humano?

- (A) 100 bilhões
- (B) 100 milhões
- (C) 100 mil
- (D) 100 trilhões

4. O que é objetivo do projeto microbioma hospitalar?

- (A) Caracterizar a comunidade bacteriana de um hospital
- (B) Compreender as consequências da limpeza e esterilização
- (C) Todas afirmativas
- (D) Caracterizar a composição taxonômica das comunidades microbianas associadas com superfície, ar, água e humanos

Bibliografia

Tetro, J.A. and Allen-Vercoe, E., 2016: The Human Microbiome Handbook – Capítulo 9: An Overview of Microbiota-Associated Epigenetic Disease

Marchesi, J.R., 2017: The Human Microbiota and Microbiome – Capítulo 9: The Gut Microbiota in Health and Disease

Zhernakova et al., 2013: Clinical implications of shared genetics and pathogenesis in autoimmune diseases. Nature Rev. Endoc. Advanced online

Lloyd-Price et al., 2017: Strains, functions and dynamics in the expanded Human Microbiome Project. Nature doi:10.1038/nature23889

Flint, H.J. et al., 2012: The role of the gut microbiota in nutrition and health. Nature Rev. Gastroenterology and Hepatology. Advanced online