



Mecanismos de proteção e restauração do *Bacillus clausii* no desequilíbrio intestinal induzido por IBP utilizando a tecnologia SHIME

Zefferino Righetto, Daniel Marquez e Marcos Perez III, MD

A utilização a longo prazo de inibidores da bomba de prótons (IBP) pode provocar um desequilíbrio da flora intestinal, que pode ser restaurada com recurso a probióticos. O estudo demonstrou os efeitos probióticos de *B. clausii* na saúde da microbiota intestinal na sequência de disbiose induzida por IBP através do modelo Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem® (SHIME – Simulador do Ecossistema Microbiano Intestinal Humano). O probiótico melhorou especificamente a diversidade microbiana e os níveis de butirato, entre outros efeitos observados.

Evidências recentes demonstraram que além dos antibióticos, os inibidores da bomba de prótons (IBP) também podem induzir disbiose [1–3]. Um probiótico contendo estirpes de *Bacillus clausii* O/C, N/R, SIN e T (EG) estabeleceu a sua eficácia e segurança ao longo de décadas e tem sido uma ajuda eficaz na terapia tripla (dois antibióticos e um IBP) para o tratamento de infeções por *Helicobacter pylori*, na prevenção de sintomas digestivos originalmente atribuídos a antibióticos [4, 5]. Atualmente, a função de *B. clausii* na manutenção e na restauração da microbiota intestinal com a utilização de IBP está comprovada [6].

Triple-M-SHIME – Triplo Simulador de Mucosas do Ecossistema Microbiano Intestinal Humano

Duysburgh et al. (2023) Preparar um modelo Triple-M-SHIME *in vitro* para 9 semanas através de amostras fecais de um dador com níveis elevados de amostras produtoras de butirato (Fig. 1). O objetivo era replicar as várias regiões de trato gastrointestinal de um determinado dador (ou seja, íleo, cólon proximal e cólon distal) e a respetiva microbiota [7]. As alterações no ecossistema microbiano e nas atividades metabólicas foram avaliadas nos três braços do estudo, nomeadamente: controlo (apenas IBP), preventivo (IBP + Enterogermina® [EG] administrados em conjunto) e curativo (IBP + EG administrados posteriormente). Além disso, foram explorados resultados relacionados com disbiose induzida por IBP e hipóteses post hoc no mecanismo de ação de *B. clausii*.

Composição da comunidade microbiana e alterações associadas

Os níveis de *B. clausii* foram significativamente elevados no

lúmen e na mucosa do braço de controlo e de prevenção da fase de tratamento, tendo sido vice-versa nos braços tratados com EG na fase de lavagem ($p < 0,001$ para todas as comparações). Isto indica a sobrevivência e a replicação destas estirpes de *B. clausii* nos ambientes luminal e mucoso. Foi comunicada uma diversidade microbiana superior nestes dois ambientes durante a fase de tratamento para os braços de controlo ($p < 0,001$ cada) e preventivo ($p < 0,05$ cada) e na fase de lavagem para o braço curativo ($p < 0,001$ cada; Fig. 2).

B. clausii foi capaz de manter a contagem de bactérias inerentes como *Gemmiger formicilis* e *Akkermansia muciniphila* do cólon distal nos braços curativo e preventivo, e *Prevotella denticola* do cólon proximal no braço preventivo, que, de outra forma, teria sido reduzido por IBP.

Um aumento significativo nos níveis de butirato em diversas fases nos respetivos braços do estudo implicou uma função da EG nos níveis crescentes deste tipo de ácido gordo de cadeia curta em:

- fases de tratamento dos braços preventivo e curativo ($p < 0,004$ cada)
- cólon proximal e cólon distal dos braços preventivo (fase de tratamento) e curativo (fase de lavagem) em comparação com fase de tratamento dos respetivos braços de controlo IBP ($p < 0,001$ cada)

O butirato, a fonte principal de energia das células intestinais, influencia a motilidade intestinal, bem como as respetivas funções endócrinas, a permeabilidade e as respostas

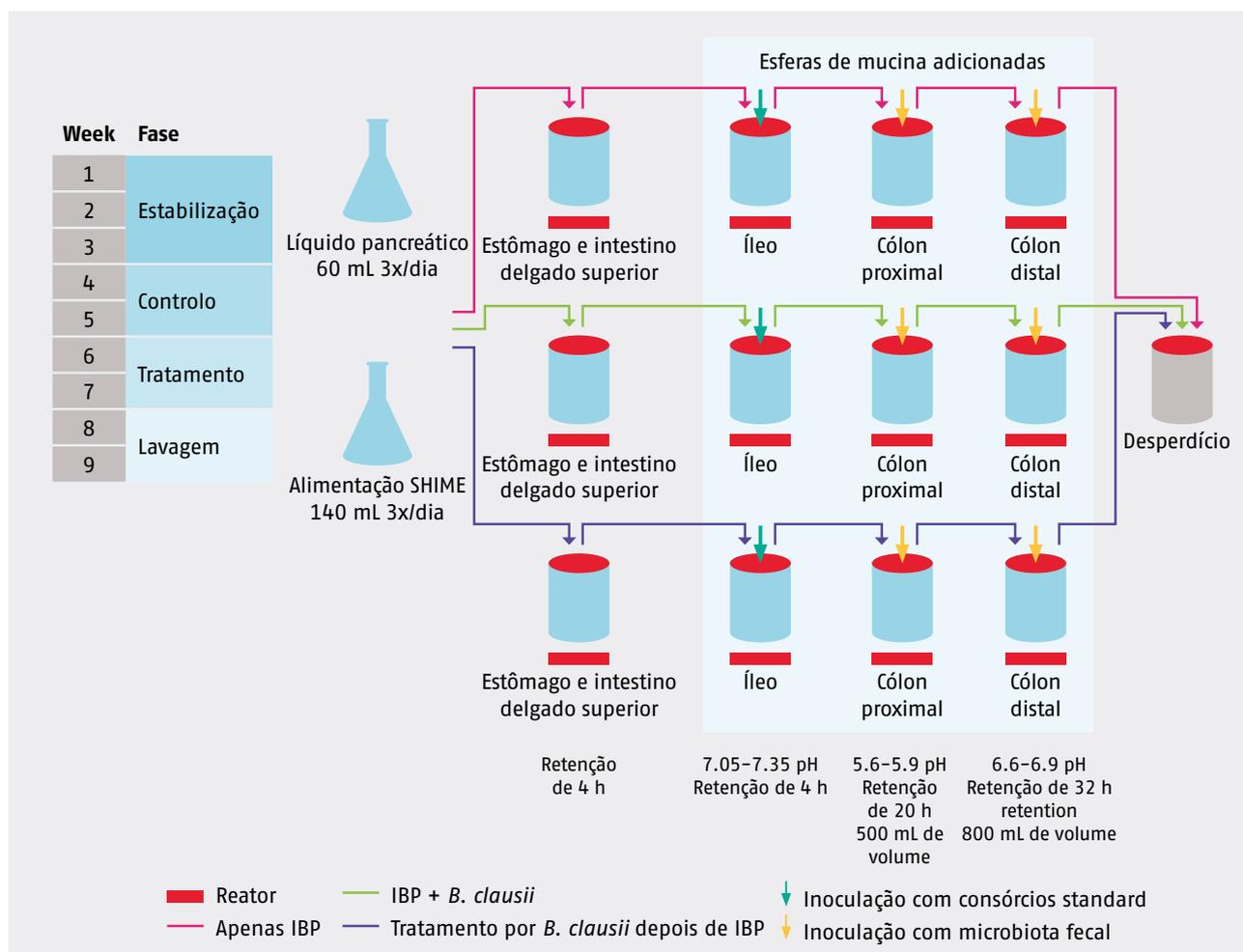


Fig. 1. Conceção do modelo Triple-M-SHIME (adaptado de Duysburgh et al. 2023 [7])

Este modelo foi otimizado para simular o trato GI completo, incluindo tempos de retenção e pH, e consistiu num reator combinado de estômago + intestino delgado. A região do íleo foi inoculada com as regiões do consórcio de íleo, cólon proximal e cólon distal, com consórcio fecal derivado do dador, e foram acrescentadas esferas de mucina para replicar o ambiente mucoso em ambientes do íleo e do cólon. Em todas as fases foram recolhidas amostras de cada recetor do ambiente luminal e mucoso.

h: hora; IBP: inibidor da bomba de prótons; Triple-M-SHIME: Triple-Mucosal-Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem

imunológicas [8]. Daí que níveis aumentados de butirato depois da utilização de probiótico sugeriram uma função benéfica na manutenção da saúde intestinal em geral [8].

Outras descobertas notáveis deste estudo incluem uma função de *B. clausii* na redução da disbiose induzida por IBP através do aumento da diversidade microbiana do intestino; a oposição aos efeitos induzidos por IBP nos níveis da microbiota intestinal (especialmente *Coriobacteriaceae*, *Selenomonadaceae*, *Akkermansiaceae*, *G. formicilis*, *A. muciniphila*, *S. bovis* e *P. denticola*); e a conversão de acetato em butirato, elevando assim os níveis de butirato e dos respetivos produtores.

Ao passo que os modelos *in vitro* oferecem uma abordagem prática e não invasiva para elucidar mecanismos, os autores do estudo estão conscientes das limitações metodológicas, como os confundidores de controlo, a transposição de resultados *in vivo* e a prática clínica, e extrapolando os resultados para a população humana. Não obstante, o estudo oferece uma fonte

de validação de resultados em investigações futuras através de conceções de estudo mais robustas.

Resumo

O inovador modelo Triple-M-SHIME, que replica a disbiose induzida por IBP, permite conhecer os potenciais mecanismos sobre a forma de promover a saúde digestiva ao melhorar a estabilidade da microbiota intestinal e ao aumentar a produção de butirato.

Bibliografia

- Lo WK, Chan WW. Proton pump inhibitor use and the risk of small intestinal bacterial overgrowth: A meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013;11:483–90. doi: 10.1016/j.cgh.2012.12.011.
- Naito Y, Kashiwagi K, et al. Intestinal dysbiosis secondary to proton-pump inhibitor use. *Digestion.* 2018;97:195–204. doi: 10.1159/000481813.
- Macke L, Schulz C, et al. Systematic review: The effects of proton pump inhibitors on the microbiome of the digestive tract-evidence from next-generation sequencing studies. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020;51:505–26. doi: 10.1111/apt.15604.

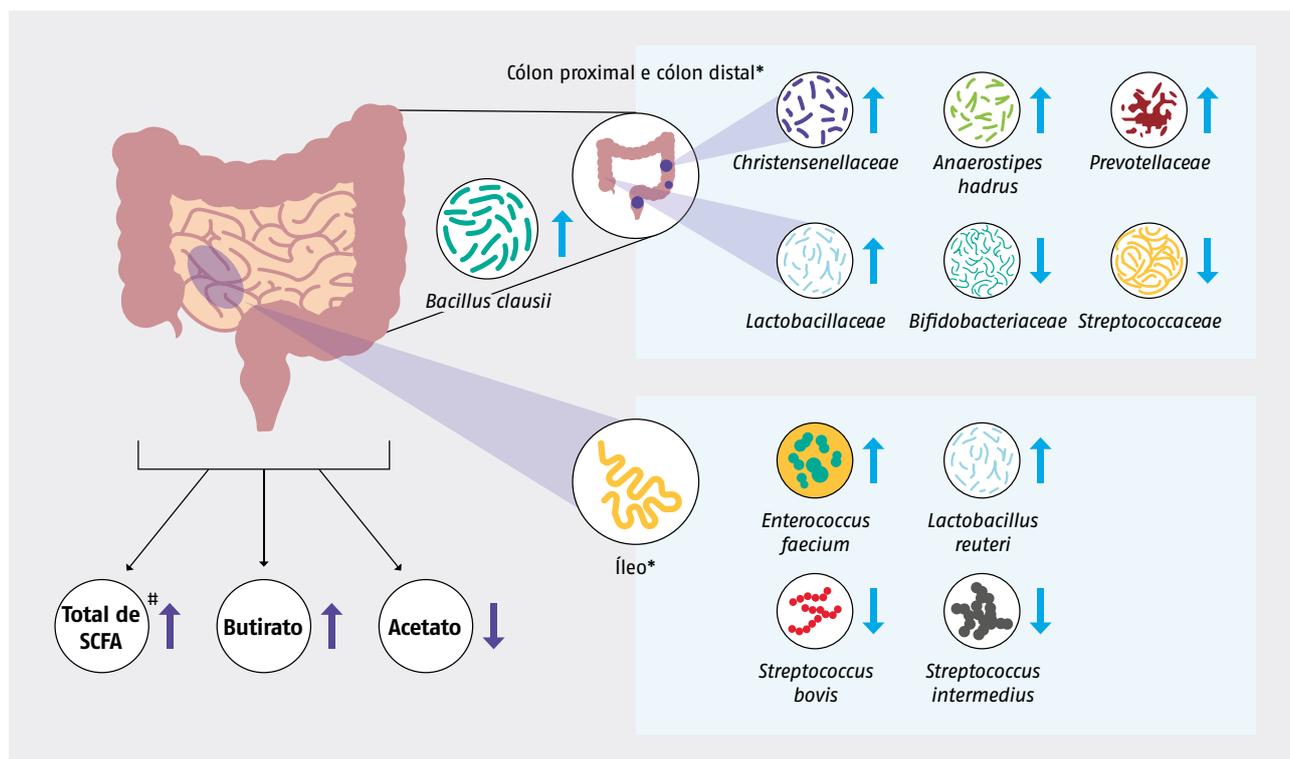


Fig. 2. Atividade metabólica e composição microbiana no íleo, no cólon proximal e no cólon distal depois do tratamento com omeprazole e Enterogermina®.

*A alteração na composição microbiana foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em comparação com o controle e também entre os braços de tratamento experimental durante os períodos de tratamento e de lavagem.

#Os níveis de propionato não foram afetados pela suplementação com Enterogermina®.

- Nista EC, Candelli M, et al. *Bacillus clausii* therapy to reduce side-effects of anti-*Helicobacter pylori* treatment: Randomized, double-blind, placebo controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004;20:1181–8. doi: 10.1111/j.1365-2036.2004.02274.x.
- Plomer M, Perez III M, et al. Effect of *Bacillus clausii* capsules in reducing adverse effects associated with *Helicobacter pylori* eradication therapy: A randomized, double-blind, controlled trial. *Infect Dis Ther.* 2020;9(4):867–78. doi: 10.1007/s40121-020-00333-2.
- Ghelardi E, Abreu y Abreu AT, et al. Current progress and future perspectives on the use of *Bacillus clausii*. *Microorganisms.* 2022;10(6):1246. doi: 10.3390/microorganisms10061246
- Duysburgh C, Verstrepen L, et al. Investigation of Enterogermina's protective and restorative mechanisms on the gut microbiota with PPI, using SHIME Technology. *Nutrients* 2023;15(3):653. doi: 10.3390/nu15030653.
- Martin-Gallausiaux C, Marinelli L, et al. SCFA: Mechanisms and functional importance in the gut. *Proc Nutr Soc.* 2021;80(1):37–49. doi: 10.1017/S0029665120006916

Agradecimentos: Os autores agradecem a Paula Fontanilla, PhD, pela revisão crítica do conteúdo científico deste manuscrito, bem como a Ashwitha A, funcionária da Sanofi, pelo apoio na redação e na edição.

Conflito de interesses: Z. Righetto, D. Marquez, M. Perez III são funcionários da Sanofi.

Divulgação: publicação financiada por Sanofi.

Informações sobre o manuscrito

Data de entrega: 23.06.2023
 Data de aprovação: 21.08.2023
 Data de publicação: 08.10.2023