

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Curso de Medicina

Ursich, B.N¹; Botelho, F.F¹; Santos, L.B.¹; Petrasso, M.V.¹; Rodrigues, S.E.B.¹; Plaggert, P.².

**A INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA INTESTINAL E DOS ANTIBIÓTICOS NO
DESENVOLVIMENTO DO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA**

Categoria: Básico experimental

¹ACADÊMICOS DO CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

²DOCENTE DO CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

São Paulo

2021

Av Milton, 226- Vila Galvão, Guarulhos- SP; 07063120

(11) 97240-0430; bruna.nunes.urs@gmail.com

**A INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA INTESTINAL E DOS ANTIBIÓTICOS NO
DESENVOLVIMENTO DO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA**

Categoria: Básico Experimental

DESCRITORES: Autismo; Microbiota intestinal; Antibióticos.

RESUMO

OBJETIVO: revisar como a microbiota intestinal e o uso de antibióticos podem influenciar no desenvolvimento do transtorno do espectro autista.

METODOLOGIA: Revisão narrativa elaborada através da utilização da base de dados PubMed com utilização dos descritores “(autism) AND (gut microbiota) AND (antibiotics)” sem uso de filtros. Foram encontrados 86 resultados e, após o emprego dos critérios de exclusão, 11 foram selecionados.

RESULTADOS: Em dois estudos foi demonstrada uma diminuição nos níveis de bifidobactérias e elevados níveis de clostrídios um risco maior de desenvolvimento do TEA (Transtorno do Espectro Austista). Cinco estudos avaliaram a associação entre a administração de antibióticos e o risco de desenvolvimento de TEA. Em um deles, o diagnóstico de otite média aumentou o risco de autismo e os indivíduos que usaram antibióticos em relação aos que não usaram tiveram um risco aumentado de TEA. No outro, as crianças que receberam antibiótico no primeiro ano de vida em comparação com as que não receberam, tiveram uma redução no risco de TEA. O terceiro estudo concluiu que há diferença na microbiota intestinal de crianças com e sem TEA. O quarto observou que a exposição a um antibiótico durante a gravidez no contexto de MIA (ativação imunológica materna) protege contra o risco aumentado de TEA na prole, enquanto o não uso de antibiótico o aumentou significativamente. O último mostrou um aumento desse risco nas crianças expostas a antibióticos no período pré-natal em comparação com aquelas que não foram expostas. Outro estudo revelou que as crianças com TEA tendem a ter menor diversidade e riqueza bacteriana. Um ensaio clínico de transplante de microbiota observou melhora no comportamento relacionado ao TEA, com melhora nas pontuações na escala de resposta social (SRS). Dois estudos realizados em ratas puderam evidenciar que certos subprodutos do metabolismo de bactérias intestinais têm a capacidade de modificar o desenvolvimento e comportamento de uma forma que se assemelham aos problemas da TEA.

CONCLUSÃO: A diminuição de bifidobactérias e aumento de clostrídios estão associados com um risco elevado de desenvolvimento do TEA, bem como administração de antibiótico em determinadas situações. Embora a relação entre a microbiota e o desenvolvimento do TEA seja descrita e comprovada na literatura, a influência do antibiótico se apresentou controversa, necessitando de mais estudos.

DESCRITORES: autism, gut microbiota, antibiotics.

ABSTRACT

OBJECTIVE: Review how the gut microbiota and the use of antibiotics may influence the development of autism spectrum disorder.

METHODS: Narrative review developed using the PubMed database with the descriptors "(autism) AND (gut microbiota) AND (antibiotics)" without using filters. Eighty-six results were found, and after using exclusion criteria, 11 were selected.

RESULTS: Two studies revealed a decrease in bifidobacteria levels and elevated levels of clostridia were shown to increase the risk of developing ASD (Autistic Spectrum Disorder). Five studies have evaluated the association between antibiotic administration and the risk of developing ASD. One of the articles found out that the diagnosis of otitis media increased the risk of autism, and individuals who used antibiotics compared to those who did not had an increased risk of ASD. In the other, children who received antibiotics in the first year of life compared to those who did not, had a reduced risk of ASD. The third study concluded that there is a difference in the gut microbiota of children with and without ASD. The fourth observed that exposure to an antibiotic during pregnancy in the context of MIA (Maternal immune activation) protects against an increased risk of ASD in the offspring, while not using an antibiotic significantly increased it. The fifth showed an increase in this risk in children exposed to antibiotics in the prenatal period compared to those who were not exposed. Another study found that children with ASD tend to have lower bacterial diversity and richness. A clinical trial of microbiota transplantation observed improved behavior related to ASD, with improved scores on the social response scale (SRS). Two studies in rats were able to highlight that certain byproducts of gut bacterial metabolism have the ability to modify development and behavior in a way that resembles TEA problems.

CONCLUSION: Decreased bifidobacteria and increased clostridia are associated with an increased risk of developing TEA, as well as antibiotic administration in certain situations. Although the relationship between the microbiota and the development of TEA is described and proven in the literature, the influence of the antibiotic has been shown to be controversial, requiring further studies.

KEYWORDS: autism, gut microbiota, antibiotics.

A INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA INTESTINAL E DOS ANTIBIÓTICOS NO DESENVOLVIMENTO DO TRANSTORNO DO ESPECTRO AUTISTA

1 INTRODUÇÃO

O Transtorno do Espectro do Autismo (TEA) é definido, de acordo com a Sociedade Brasileira de Pediatria, como um transtorno do desenvolvimento neurológico, em que se possui dificuldades de comunicação e interação social e, ainda, presença de comportamentos e/ou interesses repetitivos e restritos. Tais sintomas caracterizam o núcleo do transtorno, porém a gravidade de sua apresentação é variável. Apesar de intervenções precoces terem a capacidade de suavizar a sintomatologia e alterar o prognóstico, o TEA é um transtorno que não possui cura.¹

Estudos têm sido realizados com o intuito de associar o TEA com alterações de microbiota intestinal em crianças, bem como a relação do uso de antibióticos com um risco maior de desenvolvimento do transtorno.

Microbiota intestinal é caracterizada como conjunto de microrganismos existentes no intestino humano que estabelecem com o hospedeiro uma relação mutualística, com a contribuição de ambos e benefício para as duas partes. O desenvolvimento do microbioma humano se inicia após o nascimento, sendo ele estéril durante o período gestacional, e colonizado após o parto. A via de parto tem influência direta na colonização dos recém-nascidos. Em situações de parto normal, o fato de o neonato passar pelo canal vaginal (um ambiente repleto de microrganismos existentes na flora vaginal da mãe), permite que ocorra a colonização por *Streptococcus*, *Lactobacillus* e *Staphylococcus*. A alimentação, uso de antibióticos e contato do recém-nascido com familiares e profissionais da saúde vão influenciar a colonização da microbiota intestinal, que vai ser contínua e progressiva ao longo do tempo de vida. Entretanto, apesar da composição da microbiota se modificar ao longo da infância, ela se mantém estável durante a fase adulta, sendo ela composta predominantemente pelos filos Firmicutes e Bacteroidetes, e tendo sua representatividade dos anaeróbios composta pelos gêneros *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus* e *Fusobacterium*.²

A fermentação anaeróbica da microbiota intestinal acaba por produzir os ácidos graxos de cadeia curta (SCFA), os quais são os principais produtos metabólicos de tal processo. Dentre eles, os principais são acetato, propionato e butirato. Eles são absorvidos pela mucosa intestinal e possuem diversas funções, como no metabolismo energético e na regulação da expressão gênica, agindo na sinalização de moléculas.³ A produção de butirato tem influência no sistema imune, existindo repercussões no meio imunológico cerebral. Ainda, tem ação direta na liberação de serotonina e do hormônio intestinal, possuindo impacto na função do órgão citado.⁴

Um dos ácidos graxos de cadeia curta é o ácido propiônico, produzido por bactérias entéricas a partir do processo de fermentação de proteínas e carboidratos. Ele pode ser utilizado como conservante de alimentos com a capacidade de inibir a proliferação de fungos e bactérias. Ainda, é usado muitas vezes, na composição de herbicidas, perfumes e produtos farmacêuticos.⁵

Bactérias gram-negativas possuem em sua membrana celular externa um componente denominado lipopolissacarídeo (LPS), também conhecido como endotoxina. Ele tem em sua estrutura uma porção hidrofílica e outra hidrofóbica, duas camadas de açúcares e uma camada lipídica, sendo essa última responsável pela sua maior ação antigênica. É uma molécula altamente tóxica, conhecido como importante ativador da resposta imunológica, sendo

responsável pela inflamação sistêmica e pelas manifestações tóxicas de infecções por bactérias gram-negativas. ⁶

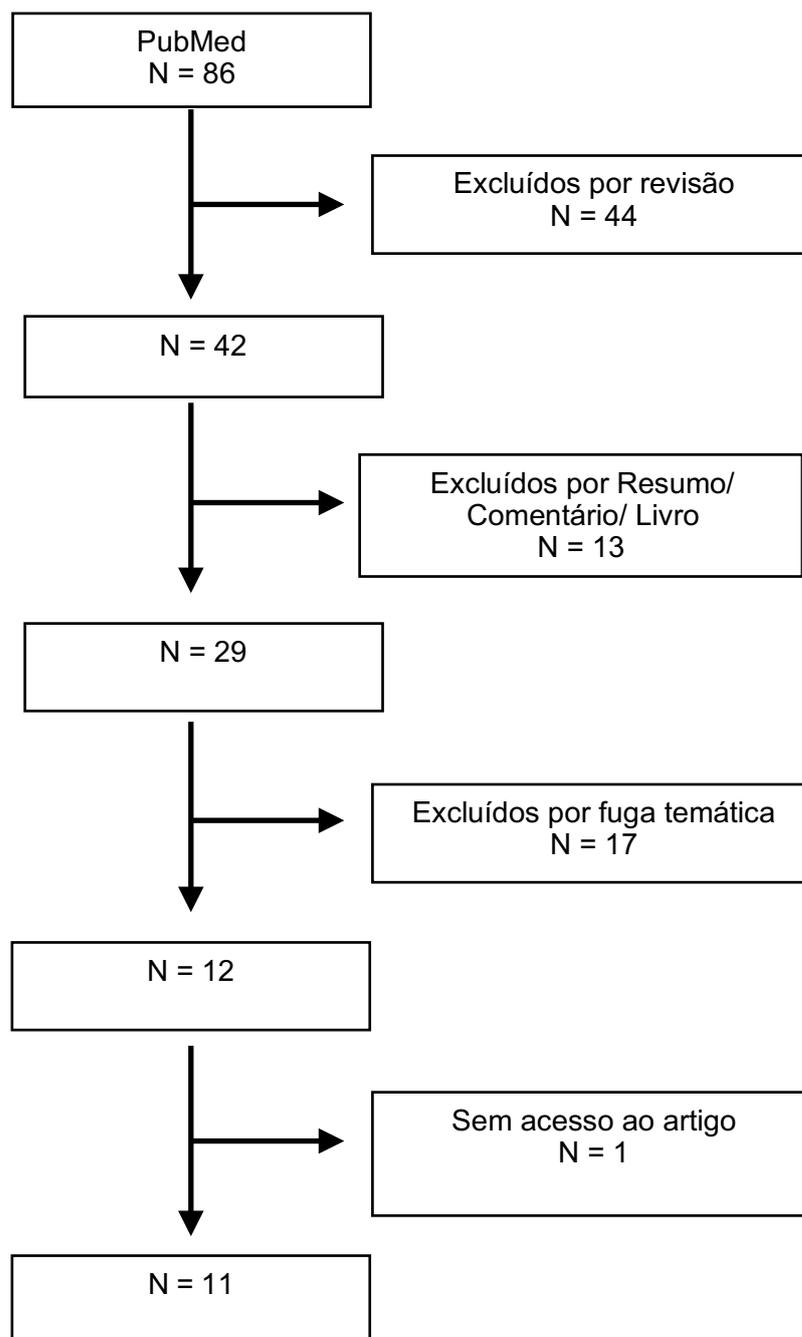
O presente estudo teve como objetivo revisar como a microbiota intestinal e o uso de antibióticos podem ter influência no desenvolvimento do Transtorno do Espectro Autista em crianças através de uma revisão narrativa.

2 OBJETIVO

Revisar como a microbiota intestinal e o uso de antibióticos podem influenciar no desenvolvimento do transtorno do espectro autista.

3 METODOLOGIA

Revisão narrativa elaborada através da utilização da base de dados PubMed a partir da utilização dos descritores “(autism) AND (gut microbiota) AND (antibiotics)” sem a aplicação de filtros. Inicialmente, foram encontrados 86 resultados e, após o emprego dos critérios de exclusão (revisões, relatos de caso, comentários e fuga temática), 11 foram selecionados para a realização do presente estudo.



4 RESULTADOS

Tabela 1 – Títulos inseridos na análise qualitativa

Nome	Ano e desenho do estudo	Amostra	Objetivo	Resultado	Conclusão
Antibiotic Resistance Genes in the Gut Microbiota of	2020 Estudo de Coorte	30 crianças com TEA e 20 crianças saudáveis com idade	Identificar a distribuição de genes de resistência a antibióticos	Foram encontrados na maioria dos metagenomas de crianças com TEA e crianças saudáveis,	A assinatura detectada e os marcadores gênicos potencialmente

Children with Autistic Spectrum Disorder as Possible Predictors of the Disease. (11)		entre 2 a 9 anos	(ARGs) e a determinação de sua fonte bacteriana na microbiota intestinal de crianças com TEA e crianças com desenvolvimento típico para identificar os ARGs como potenciais preditores de TEA.	os ortólogos de ARGs para macrolídeos, tetraciclina, aminoglicosídeos e β-lactâmicos. Observou-se um aumento de ARGs no resistome da microbiota intestinal de crianças com TEA	podem ser preditores para o desenvolvimento inicial de TEA.
Interaction between Maternal Immune Activation and Antibiotic Use during Pregnancy and Child Risk of Autism Spectrum Disorder. (12)	2020 Estudo de Coorte	976 pares de mãe-filho	Avaliar se o uso de antibióticos durante a gravidez modifica a associação entre a exposição pré-natal à ativação imune materna e o risco subsequente de transtorno do espectro do autismo, em uma coorte de nascimentos prospectiva com 116 casos de TEA e 860 crianças controles com desenvolvimento típico	Observou-se aumento do risco de TEA em crianças nascidas de mães que apresentaram ativação imunológica materna (MIA) durante a gravidez, especificamente febre. No entanto, entre as mulheres que tiveram MIA devido à gripe e foram expostas a antibióticos durante a gravidez, o risco de TEA foi atenuado; em contraste, a associação entre a exposição à gripe e o aumento do risco de TEA permaneceu entre aqueles sem uso de antibióticos.	O uso de antibióticos afeta o microbioma intestinal materno, modificando a influência da ativação imunológica materna no neurodesenvolvimento e sintomas semelhantes ao autismo na prole.
Otitis media, antibiotics, and risk of autism spectrum disorder. (9)	2018 Estudo de Coorte	780.547 crianças nascidas entre 1 de janeiro de 1997 a 31 de	Examinar o risco de autismo em relação à otite média e uso de antibióticos	O risco absoluto de autismo antes dos 10 anos aumentou entre as crianças com otite média (1,2% para mulheres e 3,3% para homens) e em crianças que	Concluiu-se que existem associações entre otite média e autismo. A otite média foi mais fortemente associada ao

			de dezembro de 2008	de amplo espectro.	resgataram uma prescrição de antibióticos (0,6% e 2,7% para mulheres e homens) em comparação com crianças sem histórico de otite média e uso de antibióticos (0,4% para mulheres e 1,9% para homens). Da mesma forma, encontramos um aumento da taxa de risco de autismo associado à otite média (1,83 IC 95% 1,71-1,95) e uso de antibióticos (1,29 IC 95% 1,17-1,43). Uma história de otite média e tratamento com antibióticos não aumentou ainda mais o risco de autismo.	uma prescrição de antibióticos (0,6% e 2,7% para mulheres e homens) em comparação com crianças sem histórico de otite média e uso de antibióticos (0,4% para mulheres e 1,9% para homens). Da mesma forma, encontramos um aumento da taxa de risco de autismo associado à otite média (1,83 IC 95% 1,71-1,95) e uso de antibióticos (1,29 IC 95% 1,17-1,43). Uma história de otite média e tratamento com antibióticos não aumentou ainda mais o risco de autismo.	risco de autismo do que outras infecções. Além disso, foi encontrada uma associação entre uso de antibióticos e autismo. No entanto, foram encontradas poucas evidências de qualquer efeito sinérgico entre otite média e antibióticos de amplo espectro uso
Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. (15)	2017 Estudo aberto.	18 crianças com diagnóstico de TEA.	O estudo teve o objetivo de avaliar o impacto da Terapia de Transferência de Microbiota (MTT) na composição da microbiota intestinal e sintomas gastrointestinais e do transtorno do espectro autista.	A Escala de Avaliação de Sintomas Gastrointestinais revelou uma redução de aproximadamente 80% dos sintomas gastrointestinais no final do tratamento, incluindo melhorias significativas nos sintomas de constipação, diarreia, indigestão e dor abdominal. As melhorias persistiram 8 semanas após o tratamento. Da mesma forma, as avaliações clínicas mostraram que os sintomas comportamentais de TEA melhoraram significativamente e	Os achados sugerem que o Terapia de transferência de microbiota é seguro e bem tolerado em crianças com TEA com idades entre 7 e 16 anos. A terapia levou a melhorias significativas nos sintomas relacionados ao GI e ao Transtorno do espectro do autismo, e as melhorias foram sustentadas pelo menos 8 semanas após o tratamento. Esta microbiota intestinal deslocada de		

				permaneceram melhorados 8 semanas após o término do tratamento.	crianças com TEA em direção à de crianças neurotípicas é consistente com a hipótese de que a microbiota intestinal pode ser pelo menos parcialmente responsável pelos sintomas gastrointestinais e de TEA.
Prenatal antibiotics exposure and the risk of autism spectrum disorders: A population-based cohort study. (13)	2019 Estudo de Coorte	214.834 crianças nascidas em Manitoba, Canadá, entre 1º de abril de 1998 e 31 de março de 2016.	O objetivo foi examinar a associação entre a exposição pré-natal a antibióticos e o risco de TEA.	De todos os indivíduos, 80.750 (37,6%) foram expostos a antibióticos no período pré-natal. Durante o acompanhamento, 2.965 crianças receberam um diagnóstico de ASD. Em comparação com crianças que não foram expostas a antibióticos no pré-natal, aquelas que foram expostas tiveram um risco maior de TEA. A associação foi observada naqueles expostos a antibióticos no segundo ou terceiro trimestre.	Os achados não sugeriram nenhuma associação clinicamente significativa entre a exposição aos antibióticos no início da vida e o risco de transtornos do espectro do autismo, e devem fornecer garantias aos prescritores e pais preocupados.
An agent-based modeling framework for evaluating hypotheses on risks for developing autism: effects of the gut microbial environment (7)	2015 Estudo experimental.	Modelo baseado em agente consistente de três espécies bacterianas : clostrídio, bifidobactérias e desulfovibríio para a representação mínima de um	Testar como as mudanças na população dinâmica do microbioma intestinal pode levar à populações microbianas desequilibradas associada a pacientes com autismo	O modelo computacional mostrou uma resposta não linear para alteração da taxa de crescimento bacteriano. Aumentando as bifidobactérias a taxa de crescimento foi apenas ligeiramente protetora para o	Apesar das grandes perturbações nos níveis iniciais de bactérias, as populações atingem de forma robusta um único estado estacionário em condições intestinais semelhantes. Esses resultados de simulação

modelo de
intestino
austista.

desenvolvimento de TEA. sugerem que distúrbios, como um tratamento com prebióticos ou antibióticos, podem afetar apenas temporariamente o microbioma intestinal. No entanto, tratamentos de prebióticos ou sustentados podem corrigir baixas contagens de bifidobactérias na população. Além disso, nossas simulações sugerem que a taxa de crescimento de clostrídios é um determinante chave do risco de desenvolvimento de autismo.

Sexually dimorphic effects of prenatal exposure to lipopolysaccharide, and prenatal and postnatal exposure to propionic acid, on acoustic startle response and prepulse inhibition in adolescent rats: relevance to autism spectrum disorders. (16)	2015 Estudo experimental	Doze ratos fêmeas primíparas Long-Evans pesando entre 270 e 310 g e ratos Long-Evans machos adultos pesando entre 375 e 550 g.	Investigar se a administração de fatores imunológicos e gastrointestinais durante a gestação e no início da vida alterou a resposta de sobressalto e a inibição do pré-pulso em filhos adolescentes usando lipopolissacarídeo (LPS), um mimético bacteriano e ácido propiônico (PPA), um ácido graxo de cadeia curta e produto metabólico de bactérias entéricas resistentes a antibióticos.	Os tratamentos pré-natal e pós-natal alteraram o comportamento do sobressalto de uma maneira específica para o sexo. O tratamento pré-natal com LPS produziu hipersensibilidade ao sobressalto acústico em homens, mas não em mulheres, e não alterou a inibição do pré-pulso. Alterações sutis nas respostas de sobressalto que desapareceram com testes repetidos ocorreram com PPA pré-natal e tratamento PPA pós-natal em filhos do sexo masculino e feminino. O tratamento pré-natal com PPA diminuiu a inibição do pré-pulso em mulheres, mas não em homens. Por último, as mulheres que receberam um duplo acerto de PPA, pré-natal e pós-natal, mostraram sensibilização ao sobressalto acústico, fornecendo evidências para a hipótese do duplo acerto.	Os resultados fornecem evidências de que subprodutos do metabolismo das bactérias entéricas podem alterar o desenvolvimento e comportamento de maneiras que se assemelham a problemas sensoriais observado em ASD. Infecção repetida ou insulto imunológico ao longo da gestação e início da vida podem influenciar o microbioma intestinal e levar à produção de produtos metabólicos que alteram o neurodesenvolvimento em populações suscetíveis.
In vitro fermentation of B-GOS: impact on faecal bacterial populations and metabolic activity in	2017 Estudo experimental	Amostras fecais de três crianças não autistas e três doadores de crianças autistas que	Avaliar os efeitos do B-GOS (65% de conteúdo de GOS) na ecologia microbiana do intestino e nos produtos	Consistente com estudos anteriores, a microbiota de crianças com TEA continha um número maior de <i>Clostridium</i> spp. e um menor número de bifidobactérias	A suplementação da microbiota de crianças com TEA com 65% de B-GOS pode manipular a população bacteriana intestinal e

autistic and
non-autistic
children.
(8)

estavam livres de quaisquer doenças metabólicas e gastrintestinais, não estavam tomando suplementos probióticos ou prebióticos e não haviam tomado antibióticos 6 meses antes doação de amostra fecal.

metabólicos finais da fermentação microbiana.

em comparação com crianças não autistas. A administração de B-GOS aumentou significativamente as populações de bifidobactérias em cada compartimento dos modelos, tanto com amostras autistas quanto não autistas derivadas, e lactobacilos no vaso final de modelos não autistas. Além disso, foram observadas alterações em outra população bacteriana, em particular para *Clostridium*, *Rosburia*, *Bacteroides*, *Atopobium*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Sutterellaspp.* e *Veillonellaceae*. Além disso, a adição de B-GOS aos modelos alterou significativamente a produção de ácidos graxos de cadeia curta em ambos os grupos e aumentou o etanol e o lactato em crianças autistas.

alterar a atividade metabólica para uma configuração que pode representar um benefício à saúde do hospedeiro. No entanto, mais trabalho será necessário para avaliar essas mudanças em um estudo de intervenção humana in vivo..

Sexually dimorphic effects of prenatal exposure to propionic acid and lipopolysaccharide on social behavior in neonatal, adolescent, and adult rats: implications for autism spectrum disorders (5)	2014 Estudo experimental	Ratos fêmeas Long-Evans pensando entre 230 e 305g e machos adultos pesando entre 370-575g.	Descrever os efeitos do ácido propiônico pré-natal (PPA), um ácido graxo de cadeia curta e produto metabólico de muitas bactérias entéricas resistentes a antibióticos, e do lipopolissacarídeo pré-natal (LPS), um mimético bacteriano e componente do microbioma, no comportamento social em homens e mulheres ratos neonatais, adolescentes e adultos.	Foram observados efeitos sutis no comportamento, específicos para o sexo e a idade. Filhotes machos e fêmeas tratados com PPA foram prejudicados em um teste de resposta de busca de seu ninho, sugerindo prejuízo no reconhecimento social mediado pelo olfato. Da mesma forma, os adolescentes do sexo masculino, nascidos em mães tratadas com PPA, se aproximaram de um novo objeto mais do que os animais de controle e mostraram níveis aumentados de atividade locomotora em comparação com as fêmeas pré-natais com PPA. LPS pré-natal produziu prejuízos sutis no comportamento social em ratos adultos machos e fêmeas.	Os achados aumentam a possibilidade de que a breve exposição pré-natal a níveis elevados de produtos do microbioma, como PPA ou LPS, pode influenciar sutilmente o recém-nascido.
Early childhood antibiotics use and autism spectrum disorders: a population-based cohort study (10)	Estudo de Corte 2018	Todos os nascidos vivos em Manitoba, Canadá, entre 1º de abril de 1998 e 31 de março de 2016.	Avaliar a associação entre a exposição a antibióticos no início da vida e o risco de TEA.	De todos os indivíduos da coorte (n = 214.834), 94.024 (43,8%) obtiveram prescrição de antibióticos durante o primeiro ano de vida. Durante o acompanhamento, 2.965 crianças receberam um diagnóstico de ASD. Em comparação com crianças que não usaram antibióticos	Os achados não sugeriram nenhuma associação clinicamente significativa entre a exposição aos antibióticos no início da vida e o risco de transtornos do espectro do autismo.

<p>Treatment with the traditional Chinese medicine BuYang HuanWu Tang induces alterations that normalize the microbiome in ASD patients. (14)</p>	<p>Ensaio Clínico 2020</p>	<p>14 pacientes com TEA que receberam TCMT</p>	<p>caracterizar as alterações do microbioma intestinal em crianças com TEA e sua normalização após o tratamento com TCM (TCMT), o que pode fornecer novos insights sobre o diagnóstico e terapia de TEA.</p>	<p>durante o primeiro ano de vida, aquelas que receberam antibióticos tiveram um risco reduzido de TEA. No nível do filo, as Proteobacteria mostraram um aumento significativo em crianças com TEA, o que pode ser uma assinatura da disbiose na microbiota intestinal. No nível de gênero, <i>Blautia</i>, <i>Coprococcus</i> 1, a família Lachnospiraceae e a família Ruminococcaceae foram encontrados nos níveis mais baixos de abundância relativa em crianças com TEA, enquanto as abundâncias de <i>Escherichia-Shigella</i>, <i>Klebsiella</i> e Flavonifractoraumentaram significativamente em comparação com o grupo de controle saudável.</p>	<p>O estudo detectou a disbiose da microbiota intestinal em crianças com TEA em comparação com controles saudáveis e conduziu comparações entre antes e depois do TCMT. O filo Proteobacteria e um total de 18 gêneros exibiram diferenças estatisticamente significativas, incluindo <i>Blautia</i>, <i>Fusicatenibacter</i>, <i>Escherichia-Shigella</i> e <i>Klebsiella</i>. Curiosamente, <i>Escherichia-Shigella</i> foi encontrado para ser significativamente mais abundante em crianças com ASD. Em geral, a maioria dos resultados deste estudo coincidiu com os de estudos anteriores semelhantes, e também houve alguns novos achados que devem levar a novas</p>
---	----------------------------	--	--	--	--

investigações
teóricas e
empíricas e
estudos
experimentais
neste campo.

5 DISCUSSÃO

Com o intuito de identificar as diferenças da composição da microbiota intestinal em crianças com e sem o transtorno do espectro do autismo (TEA) e a influência do uso de prebióticos como tratamento, foram conduzidos dois estudos que demonstraram uma diminuição nos níveis de bifidobactérias e elevados níveis de clostrídios como um risco maior de desenvolvimento do TEA. O primeiro de Weston B et al, realizou um estudo em que construiu um modelo baseado em agente de interações populacionais de clostrídios, desulfovibrio e bifidobactérias no intestino. Observou-se uma diminuição da taxa de crescimento de bifidobactérias, indicando um maior risco de desenvolvimento de TEA. Além disso, a diminuição das taxas de crescimento de clostrídios ou desulfovibrio resultou um menor risco de desenvolvimento de TEA. A utilização de antibióticos como a Vancomicina diminui as taxas de crescimento de clostrídios e desulfovibrio, demonstrando aliviar temporariamente os sintomas de TEA. Foi demonstrado também, que o aumento de frutooligosacarídeos em 100% conseguiu compensar uma redução na taxa de reprodução de bifidobactérias de 20%, indicando que um pré-biótico tal como ele, pode ser usado eficazmente como tratamento para baixas populações de bifidobactérias. ⁷

O segundo estudo de Grimaldi et al, realizado com amostras fecais de três crianças com autismo e três crianças não autistas teve como objetivo avaliar a influência de um galactooligosacarídeo prebiótico (B-GOS) no microbioma intestinal, bem como função metabólica dessas crianças utilizando um sistema intestinal *in vitro*. Foi notado que, em crianças com TEA, o número de bifidobactérias foi menor quando comparado com o outro grupo de crianças. Após a administração de B-GOS, houve um aumento significativo de *Bifidobacterium* spp em ambas as amostras. Naquelas provenientes de crianças autistas, além da bactéria citada acima, ocorreu aumento de *Clostridium* cluster XI, mas também uma diminuição de *Veillonellaceae*. Já nos modelos não autistas, houve um aumento no número de bifidobactérias e em bactérias de ácido láctico. ⁸

Foram realizados cinco estudos avaliando a associação entre a administração de antibióticos e o risco de desenvolvimento de TEA. Dentre esses estudos, três analisaram essa relação em crianças e dois em gestantes. Em ambos os grupos analisados, as conclusões foram distintas, mostrando aumento do risco de desenvolvimento de TEA com administração de antibióticos e diminuição de tal risco. Ainda, em um dos estudos realizados com crianças, pôde-se concluir que não houve associação de risco de TEA e administração dos medicamentos quando usados no primeiro ano de vida. O primeiro foi um estudo observacional de Theresa Wimberley et al (2018) realizado com 780.547 crianças que nasceram na Dinamarca entre 1997 e 2008, um total de 9.352 desenvolveram autismo dentre as 7.631.510 pessoas que foram acompanhadas até 2012. Analogamente 43.149 indivíduos foram diagnosticados com otite média. O objetivo do estudo foi avaliar o risco de autismo em relação a otite média e uso de antibióticos de amplo espectro. Foi observado durante o estudo que o diagnóstico de otite média aumentou o risco de autismo. Indivíduos que foram expostos a outras infecções além da otite média tinham um risco aumentado de serem diagnosticados com autismo. Além disso, quando

comparados a indivíduos que nunca usaram antibióticos, o uso de antibióticos de amplo e moderado espectro, aumentaram significativamente a incidência de autismo, enquanto o tratamento com antibióticos de espectro estreito mostraram apenas associação limitada com autismo.⁹

O segundo, de Hamad, Amani F et al. (2018) foi um estudo de coorte que teve como objetivo avaliar a associação entre a exposição a antibióticos durante o primeiro ano de vida e o risco de TEA em uma coorte com 214.834 crianças. No decorrer do acompanhamento, 2.965 receberam o diagnóstico de TEA. As crianças que receberam antibiótico no primeiro ano de vida em comparação com as que não receberam, tiveram uma redução no risco de TEA. Entretanto, tal estudo obteve fatores de confusão, fazendo com que os autores realizassem uma coorte de irmãos, que incluiu 80.225 indivíduos e os resultados mostraram que a exposição precoce a antibióticos não foi associada a TEA.¹⁰

O terceiro, de Kovtun et al, (2020) foi um estudo coorte com 30 crianças com transtorno do espectro autista (TEA) e 20 crianças saudáveis, de 2 a 9 anos, tendo como objetivo estudar a distribuição de genes resistentes a antibióticos (GRAs) na microbiota intestinal dessas crianças e compará-las. Encontrou-se associações significativas entre a presença de GRAs em algumas espécies bacterianas da microbiota de crianças com TEA, como: o gene *aac(6')-aph(2'')* da bactéria *E. faecalis*, o gene *cepA-49* da bactéria *B. fragilis* e, por fim, o gene *tet (40)* da bactéria *M. elsdenii*. Esses marcadores genéticos podem predispor o desenvolvimento inicial de TEA. Portanto, o estudo concluiu que há diferença na microbiota intestinal de crianças com e sem TEA, principalmente devido à presença dos genes resistentes a antibióticos, o que reforça a ideia da influência negativa da antibioterapia no início da vida.¹¹

O quarto, foi um estudo de coorte de Calliope Hologue et al (2020) realizado com o objetivo de observar se a associação entre a ativação imunológica materna (MIA) durante a gravidez e o risco de autismo da criança com transtorno de espectro autista (TEA) se diferencia entre as mulheres que tomaram ou não tomaram antibióticos em qualquer momento da gravidez. A ativação imune materna é definida como um estado inflamatório elevado que segue uma das múltiplas exposições possíveis, como infecção, febre, estresse psicossocial ou psicopatologia e outras condições inflamatórias. Foram avaliadas 976 crianças, sendo 116 com TEA e 860 com desenvolvimento típico. Como resultado foi observado que a exposição a um antibiótico durante a gravidez no contexto de MIA pode proteger contra o risco aumentado de TEA na prole, enquanto o não uso de antibiótico aumentou significativamente o risco de TEA.¹²

Hamad et al (2019) realizaram o quinto estudo, feito com 1.943.612 pacientes em que estudaram a relação da exposição pré-natal a antibióticos com as mudanças da microbiota de bebês e com o desenvolvimento do espectro do autismo (TEA). Nesse estudo, 37% dos indivíduos foram expostos a antibióticos no período pré-natal, e essa associação mostrou um aumento de 10% no risco de desenvolvimento de transtorno do espectro autista nas crianças expostas a antibióticos nesse período em comparação com aquelas que não foram expostas. Esse risco aumentado foi demonstrado em pessoas expostas a penicilinas e outros beta-lactâmicos e em pessoas expostas a antibióticos no segundo ou terceiro trimestre, sendo que o maior risco foi observado em pessoas expostas a antibióticos por mais de duas semanas ou que receberam 3 ou mais cursos de antibióticos.¹³

Um estudo por Zhang, Yuping et al foi efetuado comparando mudanças gerais na microbiota intestinal em relação ao TEA e controles saudáveis, antes e depois do tratamento com medicina tradicional chinesa. Foram coletadas 42 amostras fecais de indivíduos com autismo (n=28) e controles saudáveis (n=14), cujas idades médias foram 3,49 e 4,56 anos,

respectivamente. Após o tratamento com a medicina tradicional chinesa foi visto uma melhora em graus diferentes dos sintomas de crianças autistas. Além disso, foi realizada uma análise comparativa de bioinformática, e várias diferenças importantes nos comensais bacterianos foram identificadas. As análises de diversidade alfa e beta revelaram que as crianças com TEA tendem a ter menor diversidade e riqueza bacteriana. O filo Proteobacteria foi estatisticamente mais abundante em crianças com TEA, o que pode ser uma assinatura da disbiose na microbiota intestinal. 18 gêneros apresentaram diferenças estatisticamente significativas, dentre eles, a *Blautia*, *Coprococcus*, a família *Lachnospiraceae* e a família *Ruminococcaceae* foram encontrados nos níveis mais baixos de abundância relativa em crianças com TEA, enquanto as abundâncias de *Escherichia-Shigella*, *Klebsiella* e *Flavonifractor* aumentaram significativamente em comparação com o grupo de controle saudável. ¹⁴

Foi realizado um ensaio clínico aberto por Dae-Wook Kang et al (2017) com 18 crianças com diagnóstico de transtorno do espectro autista (TEA) e com problemas gastrointestinais moderados a graves, compondo o grupo 1, e 20 crianças sem TEA e distúrbios gastrointestinais, sendo grupo controle (grupo 2). Cada criança do grupo 1 participou do estudo por 18 semanas no total, participando de um tratamento de transplante de microbiota fecal de 10 semanas e um período de observação de oito semanas após a interrupção do tratamento. Foi analisado, no grupo 1, que os sintomas gastrointestinais tiveram melhora significativa para dor abdominal, indigestão, diarreia e constipação. Além disso, observou-se melhora tanto no comportamento relacionado ao transtorno do espectro autista, com melhora nas pontuações na escala de resposta social (SRS), que avalia os déficits de habilidades sociais, quanto na avaliação de irritabilidade, hiperatividade, letargia, estereotipia e fala aberrante. Comportamentos adaptativos, como comunicação, habilidades de vida diária e socialização, também tiveram progresso nos pacientes do grupo 1. Finalmente, a terapia de transferência de microbiota pareceu ser benéfica para crianças de sete a 16 anos de idade. Além disso, o transplante de microbiota se mostrou com melhorias permanentes por pelo menos oito semanas após o tratamento. ¹⁵

Dois estudos usaram ratas Long-Evans grávidas com o intuito de avaliar a relação entre produtos do metabolismo de bactérias intestinais e o comportamento semelhante ao TEA. O primeiro estudo de Foley KA et al, objetivou investigar se a administração de certos fatores imunológicos e gastrointestinais durante o período gestacional e no início da vida pudessem alterar o comportamento de forma semelhante ao TEA a partir da utilização de lipopolissacarídeo (LPS), um mimético bacteriano e ácido propiônico (PPA), um ácido graxo de cadeia curta e produto metabólico de bactérias intestinais resistentes a antibióticos. Como resultado, puderam evidenciar que certos subprodutos do metabolismo de bactérias intestinais têm a capacidade de modificar o desenvolvimento e comportamento de uma forma que se assemelham aos problemas sensoriais presentes na desordem do espectro do autismo. Portanto, a presença de infecções recorrentes ou insultos imunológicos no período gestacional e no início da vida podem ter influência sobre o microbioma intestinal, ocasionando formação de produtos metabólicos que têm a capacidade de alterar o neurodesenvolvimento em populações suscetíveis a isso. ¹⁶

O segundo, de Foley KA et al, com ratas Long-Evans grávidas, descreveu os efeitos do ácido propiônico pré-natal (PPA) e do lipopolissacarídeo pré-natal (LPS) no comportamento social em ratos machos e fêmeas neonatais, adolescentes e adultos. Obtiveram como resultado que a exposição pré-natal a níveis elevados a produtos metabólicos do microbioma como PPA e LPS podem colaborar para o desenvolvimento e/ou mudanças comportamentais presentes em certos transtornos, como na desordem do espectro do autismo. ⁵

6 CONCLUSÃO

Apesar de se mostrar ainda necessária a realização de mais estudos e com maiores amostras para a obtenção de um melhor estabelecimento da relação microbiota, antibiótico e risco de desenvolvimento de TEA, pôde-se observar que a diminuição nos níveis de bifidobactérias e elevados níveis de clostrídios estão associados com um maior risco de desenvolvimento do transtorno. A diferença na composição da microbiota nas crianças com e sem o autismo foi relacionada à presença de genes resistentes a antibióticos, o que indicou uma influência negativa da antibioticoterapia precoce. O filo Proteobacteria foi visto como o mais abundante na microbiota de pacientes com TEA, demonstrando uma disbiose intestinal.

Foi visto, ainda, que infecções recorrentes no período gestacional e início da vida possivelmente possuem influência na composição da microbiota, o que gera formação de produtos metabólicos que podem alterar o desenvolvimento e comportamento da criança, alterações essas, semelhantes as características presentes no autismo.

Em relação aos antibióticos, os efeitos foram distintos. Obteve-se como respostas que o uso dos medicamentos durante o primeiro ano de vida não teve associação com o TEA em alguns estudos, mas em outros, aumentou e diminuiu sua incidência; o uso de antibióticos de moderado e amplo espectro elevou de maneira significativa a incidência do autismo; e o uso de tais medicamentos pela gestante em contextos de MIA aparentou proteger o feto contra o risco aumentado de TEA, diferentemente do não uso do medicamento.

Dessa forma, ainda que os estudos sejam controversos e tragam diferentes resultados e conclusões, é possível identificar uma diferença na composição da microbiota intestinal de crianças com e sem TEA, bem como uma relação direta entre a associação dos antibióticos com o transtorno do espectro do autismo, sendo ele um fator desencadeante ou protetor.

REFERÊNCIAS

1. Sociedade Brasileira de Pediatria. Transtorno do Espectro do Autismo [Internet]. [local desconhecido]: Departamento Científico de Pediatria do Desenvolvimento e Comportamento; 2019 [citado 12 ago 2021]. Disponível em: https://www.sbp.com.br/fileadmin/user_upload/Ped._Desenvolvimento_-_21775b-MO_-_Transtorno_do_Espectro_do_Autismo.pdf
2. Gonçalves MA. Microbiota: implicações na imunidade e no metabolismo [masterThesis na Internet]. [local desconhecido]: [s.n.]; 2014 [citado 17 set 2021]. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10284/4516>
3. Stilling RM, van de Wouw M, Clarke G, Stanton C, Dinan TG, Cryan JF. The neuropharmacology of butyrate: the bread and butter of the microbiota-gut-brain axis? *Neurochemistry International* [Internet]. Out 2016 [citado 17 set 2021];99:110-32. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.06.011>

4. Louis P, Flint HJ. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environmental Microbiology* [Internet]. 8 dez 2016 [citado 17 set 2021];19(1):29-41. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13589>
5. Foley KA, MacFabe DF, Vaz A, Ossenkopp K, Kavaliers M. Sexually dimorphic effects of prenatal exposure to propionic acid and lipopolysaccharide on social behavior in neonatal, adolescent, and adult rats: implications for autism spectrum disorders. *International Journal of Developmental Neuroscience* [Internet]. 18 abr 2014 [citado 17 set 2021];39(1):68-78. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2014.04.001>
6. Cruz-Machado SD. Lipopolissacarídeo (LPS): ativador e regulador da transcrição gênica via fator de transcrição NFKB. *Revista Da Biologia* [Internet]. Jun 2010 [citado 17 set 2021];4:40-3. Disponível em: <https://doi.org/10.7594/revbio.04.08>
7. Weston B, Fogal B, Cook D, Dhurjati P. An agent-based modeling framework for evaluating hypotheses on risks for developing autism: Effects of the gut microbial environment. *Medical Hypotheses* [Internet]. Abr 2015 [citado 17 set 2021];84(4):395-401. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2015.01.027>
8. Grimaldi R, Cela D, Swann JR, Vulevic J, Gibson GR, Tzortzis G, Costabile A. In vitro fermentation of B-GOS: impact on faecal bacterial populations and metabolic activity in autistic and non-autistic children. *FEMS Microbiology Ecology* [Internet]. 16 nov 2016 [citado 17 set 2021];93(2):fiw233. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw233>
9. Wimberley T, Agerbo E, Pedersen CB, Dalsgaard S, Horsdal HT, Mortensen PB, Thompson WK, Köhler-Forsberg O, Yolken RH. Otitis media, antibiotics, and risk of autism spectrum disorder. *Autism Research* [Internet]. Out 2018 [citado 17 set 2021];11(10):1432-40. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/aur.2015>
10. Hamad AF, Alessi-Severini S, Mahmud SM, Brownell M, Kuo IF. Early childhood antibiotics use and autism spectrum disorders: a population-based cohort study. *International Journal of Epidemiology* [Internet]. 7 ago 2018 [citado 17 set 2021];47(5):1497-506. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ije/dyy162>.
11. Kovtun AS, Averina OV, Alekseeva MG, Danilenko VN. Antibiotic resistance genes in the gut microbiota of children with autistic spectrum disorder as possible predictors of the disease. *Microbial Drug Resistance* [Internet]. 1 nov 2020 [citado 17 set 2021];26(11):1307-20. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0325>
12. Holingue C, Brucato M, Ladd-Acosta C, Hong X, Volk H, Mueller NT, Wang X, Fallin MD. Interaction between maternal immune activation and antibiotic use during pregnancy and child risk of autism spectrum disorder. *Autism Research* [Internet]. 16 out 2020 [citado 17 set 2021];13(12):2230-41. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/aur.2411>

13. Hamad AF, Alessi-Severini S, Mahmud SM, Brownell M, Kuo IF. Prenatal antibiotics exposure and the risk of autism spectrum disorders: A population-based cohort study. PLOS ONE [Internet]. 29 ago 2019 [citado 17 set 2021];14(8):e0221921. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221921>
14. ZHANG Y, HU N, CAI Q, ZHANG F, ZOU J, LIU Y, WEI D, ZHU Q, CHEN K, ZENG L, HUANG X. Treatment with the traditional Chinese medicine BuYang HuanWu Tang induces alterations that normalize the microbiome in ASD patients. Bioscience of Microbiota, Food and Health [Internet]. 2020 [citado 17 set 2021];39(3):109-16. Disponível em: <https://doi.org/10.12938/bmfh.2019-032>
15. Kang DW, Adams JB, Gregory AC, Borody T, Chittick L, Fasano A, Khoruts A, Geis E, Maldonado J, McDonough-Means S, Pollard EL, Roux S, Sadowsky MJ, Lipson KS, Sullivan MB, Caporaso JG, Krajmalnik-Brown R. Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. Microbiome [Internet]. 23 jan 2017 [citado 17 set 2021];5(1). Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40168-016-0225-7>
16. Foley KA, MacFabe DF, Kavaliers M, Ossenkopp KP. Sexually dimorphic effects of prenatal exposure to lipopolysaccharide, and prenatal and postnatal exposure to propionic acid, on acoustic startle response and prepulse inhibition in adolescent rats: Relevance to autism spectrum disorders. Behavioural Brain Research [Internet]. Fev 2015 [citado 17 set 2021];278:244-56. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.09.032>