

MICROBIOMA INTESTINAL HUMANO E AS INFLUÊNCIAS DO MODO DE VIDA

DOI: <https://doi.org/10.56041/9786599841804-1>

TEÓFILO, Jeanine S. C.

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

<https://orcid.org/0000-0001-5577-5856>

BACK, Lia K. C.

Biogenetika Centro de Medicina Individualizada, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

<https://orcid.org/0000-0003-2154-3701>

LINDENAU, Juliana D.*

Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil

<https://orcid.org/0000-0003-0538-9820>

*Autor correspondente: juliana.lindenau@ufsc.br, (48) 37219887, Universidade Federal de Santa Catarina - Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, sala 301B, Bairro Trindade / Florianópolis/SC, CEP 88040-900

RESUMO

O corpo humano abriga cerca de 100 trilhões de micro-organismos. Estima-se que, no corpo humano exista 1,3 células bacterianas para cada célula humana, e que o número de genes microbianos exceda em 100 vezes o humano. A relação entre o homem e os micro-organismos presentes no corpo humano foi estabelecida desde o surgimento da vida e, acompanha todas as condições de vida a que ambos estão sujeitos. O microbioma intestinal humano é moldado por uma complexa conexão entre os fatores intrínsecos do microbioma e os fatores externos, que estão relacionados ao hospedeiro e ao ambiente. Com os importantes avanços das ciências genômicas, os estudos deste campo evoluíram muito, e já é possível compreender que há diferenças entre o microbioma ancestral, o dos povos caçadores-coletores, o dos agricultores e o dos de vida urbana. Corre-se o risco de perder alguns tipos específicos de bactérias intestinais devido à urbanização e sanitização. Quais bactérias se deve preservar e como realizar isso, são questões nesta área de estudo ainda não esclarecidas. Este capítulo se propõe a discutir o *status* do conhecimento atual sobre este tema.

Palavras-chave: paleolítico; caçadores-coletores; indígenas; Yanomami; urbanização; industrialização; VANISH.

1. O MICROBIOMA INTESTINAL HUMANO

O microbioma humano engloba o total de genes microbianos, produtos gênicos e genomas da microbiota (incluindo os micro-organismos bactérias, archaeas, bacteriófagos e micro-organismos eucariotos) que habitam o corpo humano (Proctor, 2011; Huttenhower et al., 2012).

Inicialmente, os estudos de microbioma humano estimavam que os micro-organismos superavam, em número, as células somáticas e germinativas humanas em um fator de dez (Savage, 1977; Whitman et al., 1998; Ley et al., 2006; Turnbaugh et al., 2007). Mas, este conceito foi revisto e, atualmente, é possível dizer que as células microbianas que colonizam o corpo humano (ambientes mucosos e cutâneos), são quase tão abundantes quanto as células somáticas e certamente contêm muito mais genes do que o genoma humano. Com base na observação experimental e, extrapolação, chega-se a uma proporção de 1,3 células bacterianas para cada 1 célula humana (Sender et al., 2016).

Embora estes cálculos reduzam a extensão em que as células microbianas superam as células humanas, eles não reduzem as estimativas relacionadas à diversidade da vida microbiana associada ao corpo humano (Reyes et al., 2010; Gilbert, 2018).

No intestino humano há em torno de 100 trilhões de micro-organismos, sendo que a maioria vive no cólon. Há, em torno de, 1.000 espécies bacterianas diferentes no trato gastrointestinal (TGI). Como cada bactéria possui em média 2.000 genes por espécie, estima-se um total de 2.000.000 genes bacterianos, o que representa mais de 100 vezes o número comumente estimado de, aproximadamente, 20.000 genes humanos (Turnbaugh et al., 2007).

Esta afirmação é concordante com o tamanho real dos catálogos de genes microbianos encontrados por MetaHIT (Metagenomics of the Human Intestinal Tract) e o Human Microbiome Project, dentre outros (Qin et al., 2010; Huttenhower et al., 2012; Gilbert, 2018; Proctor et al., 2019). Portanto, o microbioma contém muito mais genes do que o genoma do hospedeiro humano e sua composição muda com o tempo dentro de um mesmo indivíduo (Gilbert et al., 2016; Proctor et al., 2019). O microbioma associado à genética do hospedeiro resulta no que foi denominado de “super-organismo” (Turnbaugh et al., 2006).

Esforços internacionais foram realizados para identificar e estabelecer relações entre o microbioma humano e os estados de saúde e doença. Os primeiros estudos com a tecnologia de sequenciamento do gene 16S de RNA ribossomal (rRNA) foram desenvolvidos por Ruth Ley, Peter Turnbaugh, Samuel Klein e Jeffrey Gordon (Ley et al., 2006). Em 2007 foi lançado, pelo Instituto Nacional de Saúde Norte Americano (NIH), o Projeto Microbioma Humano (HMP) (Huttenhower et al., 2012). Logo em seguida, no ano de 2008, a Comissão Européia deu início ao MetaHit (Qin et al., 2010).

Ao final desta fase, descobriu-se que a composição taxonômica do microbioma por si só pode não ser uma boa correlação com o fenótipo do hospedeiro, mas que a função molecular do microbioma tende a prever melhor esta questão. Uma nova fase de estudos foi realizada pelo HMP Integrativo (iHMP ou HMP2), projetada para explorar a interação entre hospedeiro-microbioma ao longo de um determinado tempo, incluindo a imunidade, metabolismo e atividade molecular dinâmica. Três grandes estudos foram desenvolvidos nesta abordagem: gravidez e parto pré-termo; doença inflamatória intestinal (DII) e estressores que afetam indivíduos com pré-diabetes. Cada um destes estudos possui resultados riquíssimos, pois associou metagenômica por *shotgun*, metabolômica e *imunoprofiling* que capturaram propriedades hospedeiras e microbianas ligadas à doença. Esta fase alcançou seu estágio de conclusão em 2019 (Proctor et al., 2019).

Por serem a vanguarda, os resultados obtidos nestas populações foram utilizados como referência para os estudos que se seguiram. Grande parte destes trabalhos foram realizados com a população ocidentalizada (países ocidentais, educados, industrializados, ricos e democráticos) que geralmente representam a população urbana.

Impulsionados por este movimento, outros estudos foram desenvolvidos em populações mais diversas, como o International Human Microbiome Consortium (Internacional), MetaGenoPolis e MicroObes (França), The Australian Jumpstart Human Microbiome Project (Austrália), Canadian Human Microbiome Initiative (Canadá), Human Gut Microbiome and Infections (China), DAFF/HRB Elderly Gut Metagenomics Project ELDERMET (Irlanda), Human Metagenome Consortium (Japão), além de estudos com gêmeos: Korean Microbiome Diversity Using Korean Twin Cohort Project (Coréia) (Moossavi, 2014; Xie et al., 2016), dentre outros.

Cada vez mais iniciativas têm sido tomadas para a caracterização do microbioma humano em diversas populações étnicas, com o crescimento da coleta de dados e descrição das estruturas do microbioma em diversas populações não-americanas ou não-ocidentais. Esses estudos mostraram variações significativas na composição do microbioma em indivíduos saudáveis de diferentes etnias. Ficou evidente que, o nível de ocidentalização de cada população estudada e o modo de vida característicos impactam a diversidade e taxonomia do microbioma intestinal (Jha et al., 2018; Vangay et al., 2018; Fragiadakis et al., 2018; Sonnenburg & Sonnenburg, 2019).

Nas observações de populações urbanas e industriais, na composição do microbioma intestinal humano, mais de 90% de todos os tipos filogenéticos de bactérias colônicas pertencem a apenas 4 das 70 divisões filotípicas conhecidas no domínio *Bacteria*: os *Firmicutes* e os *Bacteroidetes*, seguidos pelos filos *Proteobacteria* e *Actinobacteria* (Turnbaugh et al., 2007; Qin et al., 2010; Huttenhower et al., 2012).

O Projeto Microbioma Humano encontrou uma estimativa de 81-99% dos gêneros bacterianos, famílias de enzimas e configurações da comunidade ocupadas pelo microbioma ocidental saudável. Quando comparados os indivíduos, viu-se que as vias metabólicas foram estáveis entre os indivíduos, apesar da variação na estrutura da comunidade (taxa), e a origem étnica provou ser uma das mais fortes associações (tanto para as vias, como para micro-organismos) (Huttenhower et al., 2012). Observou-se que a função metabólica variou menos do que a composição taxonômica (Huttenhower et al., 2012; Lloyd-Price et al., 2017).

Ao comparar o microbioma intestinal humano de populações remotas de caçadores-coletores (Papua Nova Guiné, Peru e Tanzânia) com populações urbanas (Reino Unido e EUA), observou-se redução dos gêneros de bactérias nas populações urbanas, de 17 para 14 gêneros (Gupta et al., 2017).

Gupta et al. (2017) propuseram um mapa que evidencia as diferentes estruturas já identificadas do microbioma intestinal humano nas populações ocidentais e nas não-ocidentais, como mostrado na Figura 1.

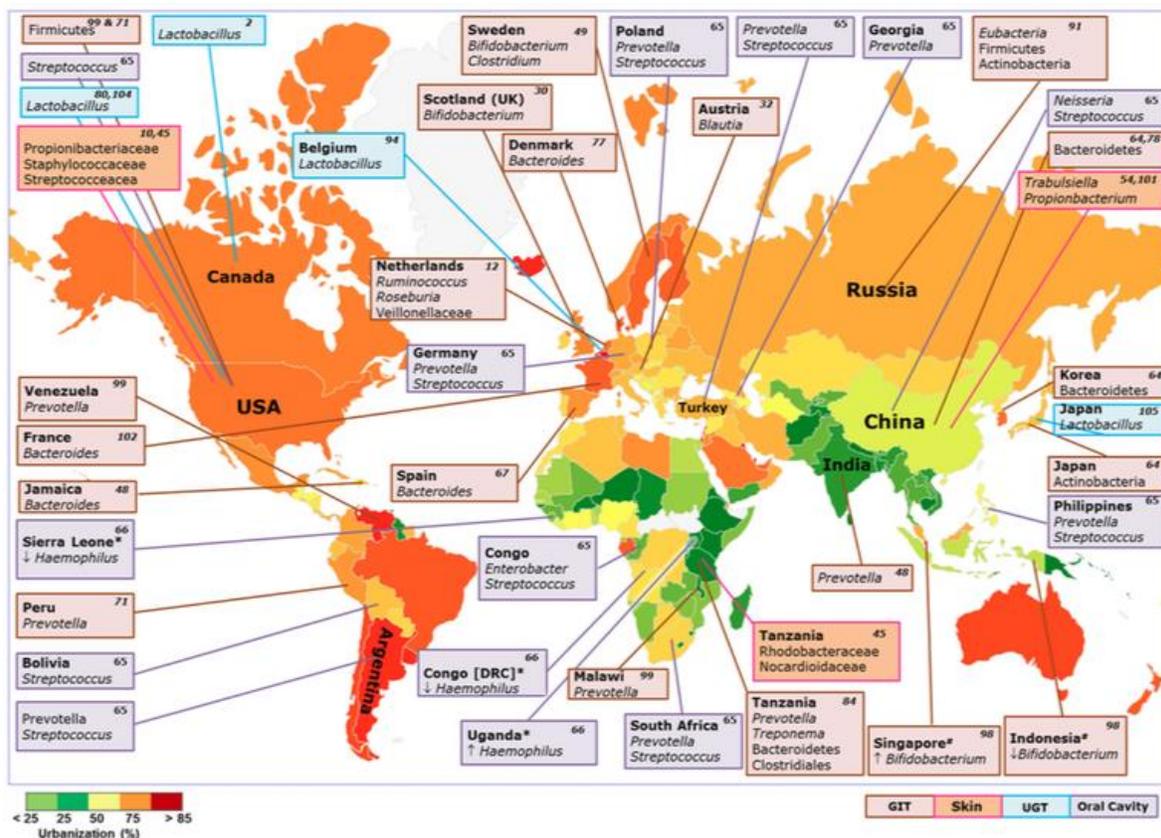


Figura 1 – Taxa enriquecido em vários nichos do corpo humano em diversas populações ao redor do mundo. Legenda: Cor da caixa: habitat corporal (GIT – trato gastrointestinal, Skin – pele, UGT – trato uro-genital, Oral cavity – cavidade oral); Cor no mapa: porcentagem de urbanização de países (<http://www.unicef.org/>), sendo que cores verdes indicam baixo percentual e cores avermelhadas alto percentual de urbanização. Seta para cima: abundância dominante de filo/gênero em comparação com a respectiva população. Seta para baixo: Baixas abundâncias de Filo/Gênero/família em comparação com a respectiva população; * e # comparações entre países específicos. Fonte: Gupta et al. (2017).

A formação da estrutura do microbioma intestinal humano é complexa. Cada pessoa pode ser vista como uma “ilha” de *habitat* ocupada por associações microbianas formadas pelos processos fundamentais

da ecologia da comunidade: dispersão, diversificação local, seleção ambiental e deriva ecológica (Costello et al., 2012).

A dispersão é o movimento dos organismos que compõem o microbioma tendo impacto significativo no tamanho relativo de cada subpopulação. A própria dispersão acaba influenciando na diversificação local, de maneira que cada estrutura pode ter seu próprio padrão de associações microbianas, o que permite que existam processos de seleção ambiental moldando estas associações a depender de quão benéficas ou não elas se traduzem diante dos fatores intrínsecos e extrínsecos a que o indivíduo está exposto. Mudanças nestes fatores podem levar à deriva ecológica, onde a variabilidade pode ser drasticamente diminuída devido à seleção ambiental e alguns micro-organismos podem tornar-se preponderantes enquanto outros desaparecem. A densidade e o arranjo espacial das manchas¹ de *habitats* hospedeiros têm sido altamente dinâmicos ao longo da história humana, como resultado da migração humana, urbanização, mudanças na estrutura de vida familiar, viagens aéreas e outros fatores (Costello et al., 2012).

A teoria da montagem da comunidade e a da metacomunidade fornecem uma estrutura, para a compreensão da dinâmica ecológica do microbioma humano, como a variabilidade da composição dentro e entre os hospedeiros. Pode-se pensar em três cenários principais de montagem do microbioma humano: a) a montagem em *habitats* anteriormente desocupados, representado pelo desenvolvimento em bebês; b) montagem após perturbação, representado pela recuperação de antibióticos; e c) montagem no contexto de espécies invasoras, representado pela invasão por patógenos (Costello et al., 2012).

É fundamental compreender que os fatores que moldam as inter-relações entre a microbiota, o hospedeiro e o ambiente são diversos. Uma proposta interessante foi apresentada por Schmidt e colaboradores (2018) e está demonstrada na Figura 2.

A composição taxonômica (Figura 3) do microbioma intestinal varia muito entre os indivíduos, devido a fatores intrínsecos e extrínsecos do microbioma. Os fatores intrínsecos do microbioma dependem do estado do microbioma após a maturação no indivíduo, e se retroalimentam através da interação dos táxons. Já os fatores extrínsecos ao microbioma referem-se às diversas influências ambientais que interagem com o microbioma intestinal, como: (1) o ambiente de forma geral (cepas regionais ou transmissão vertical), (2) os fatores extrínsecos do hospedeiro (estilo de vida) e (3) os fatores intrínsecos do hospedeiro (genética do hospedeiro) (Schmidt et al., 2018).

¹ Manchas de habitats faz parte da teoria das metacomunidades, compreendido como áreas espacialmente distintas de habitat adequado, cercado por uma matriz de habitat inadequado (COSTELLO et al., 2012).

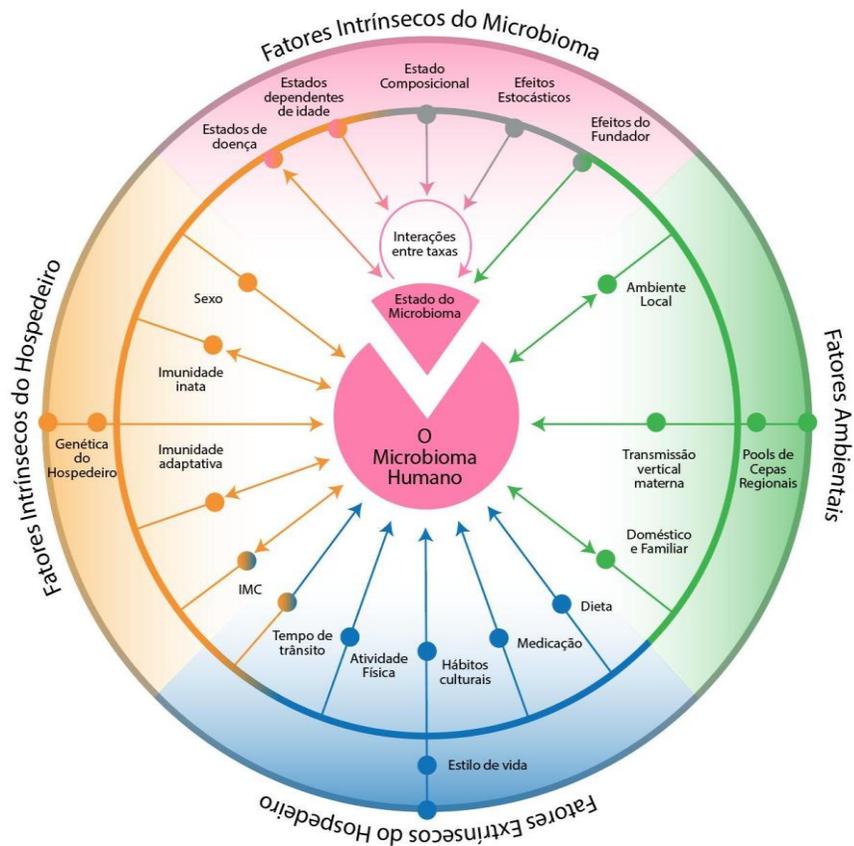


Figura 2 – Representação dos fatores que contribuem para a definição da composição do microbioma intestinal humano. Fonte: Adaptada de Schmidt, Raes e Bork (2018).

O grau onde o microbioma é moldado por cada um desses fatores permanece em discussão. Não está claro qual fator desempenha papel dominante na formação do microbioma (natureza ou nutrição, genética do hospedeiro ou seu ambiente, tradições ou estilo de vida). Jha et al. (2018), destacam a dificuldade em separar as contribuições dos fatores genéticos e geográficos humanos das contribuições do estilo de vida.

Após estes anos de pesquisas, algumas relações já ficaram bem definidas: a) cada ser humano parece carregar seu próprio conjunto, amplamente individual, de cepas microbianas, b) adquiridas no início da vida, c) diferem entre ambientes e populações, d) podem persistir por anos, e) passar por transições relativamente rápidas (Proctor et al., 2019).



Figura 3 – Classificação taxonômica desde Reino até Cepas.

2. DIFERENÇAS NO MICROBIOMA INTESTINAL HUMANO DAS POPULAÇÕES TRADICIONAIS E URBANAS (INDUSTRIALIZADAS)

Quando se reflete sobre os fatores ambientais que moldam o microbioma humano é necessário lembrar que, embora grande parte da história da humanidade foi gasta forrageando nas florestas, o advento da agricultura, há aproximadamente 10.000 anos, e a industrialização, há aproximadamente 250 anos, marcaram grandes mudanças no estilo de vida humano (Jha et al., 2018).

A partir do século XIX, e acelerando, no século XX houve mudanças importantes na ecologia humana, como acesso à água mais limpa, famílias menores, aumento no número de cesarianas e no uso de antibióticos pré-termo, redução da amamentação e uso generalizado de antibióticos, principalmente em crianças (Blaser & Falkow, 2009; Blaser, 2018).

O ambiente urbano de alta densidade, historicamente, abrigou apenas uma fração de todas as pessoas, com a maioria vivendo em áreas rurais ou pequenas aldeias. Nas últimas duas décadas, a situação inverteu-se: 55% da população mundial agora vive em áreas urbanas (Danko et al., 2021).

Como o processo de industrialização não atingiu o mundo da mesma forma, coexistem, em um mesmo tempo, estilos de vida e formas de subsistência extremamente diferentes. Neste sentido, a localização geográfica é um dos fatores relacionados ao ambiente que se mostra importante nas análises

do microbioma. Uma vez que dieta, saneamento e acesso a cuidados médicos estão frequentemente associados às características geográficas e culturais, que diferenciam as populações em comparação, e confundem as variáveis do estilo de vida (Jha et al., 2018). Desta forma, a influência entre os fatores ambientais e os fatores extrínsecos do hospedeiro, podem ser associados e trazerem confusão às análises.

Além disso, a geografia torna-se importante a partir da compreensão de que representa também um conjunto de fatores genéticos, além dos ambientais e culturais dos indivíduos que habitam determinado local (Gupta et al., 2017).



Figura 4 – Transição gradual na composição do microbioma intestinal a partir de mudanças na estratégia de subsistência do hospedeiro. A. Partindo de uma população remota caracterizada principalmente pela coleta de alimentos, caça, contato com a natureza em sua forma selvagem. B. População de fazendeiros tradicionais ou pescadores tradicionais que utilizam também a agricultura de subsistência. C. População urbana industrializada ocidental.

Fonte: Adaptada de Gupta et al. (2017).

Com base nas diferenças do microbioma intestinal humano, entre os povos caracterizados como caçadores-coletores e a população ocidentalizada, é possível estabelecer uma relação de transição, como pode-se observar na Figura 4. Estas diferenças foram atribuídas, principalmente, à questão alimentar e ao ambiente, mas também ao uso de medicamentos (Gupta et al., 2017).

O microbioma intestinal das populações de caçadores-coletores possui maior prevalência de algumas famílias de bactérias, como *Prevotella*, *Succinivibrionaceae*, *Paraprevotellaceae*, *Proteobacteria*, *Spirochaetes*, *Clostridiales*, *Ruminobacter*, entre outros, e possuem reduzidas abundâncias de *Bacteroidales* e *Lachnospiraceae*. Enquanto o microbioma das comunidades urbanas é, frequentemente, enriquecido em *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Verrucomicrobia* e *Firmicutes* (Gupta et al., 2017; Fragiadakis et al., 2018).

Nos estudos realizados por Fragiadakis et al. (2018), com uma população de caçadores-coletores da Tanzânia, foram comparadas a abundância relativa da família de bactérias intestinais *Prevotellaceae* dos Hadza com outras populações de caçadores-coletores (Venezuela e Malawi), e ainda com uma amostra urbana da população dos EUA. Foi possível verificar que esta família de bactérias manteve-se elevada nas populações tradicionais. Embora, diferenças entre as microbiotas de populações industrializadas e tradicionais possam ser esperadas, a conservação de níveis mais elevados de *Prevotellaceae* e outros 15mberb em populações tradicionais, geograficamente separadas, sugere que esses organismos evoluíram bem adaptados ao hospedeiro humano. A associação desses micro-organismos com o estilo de vida que definiu os humanos durante grande parte de sua existência, como espécie, sugere que as funções associadas a esses 15mberb podem ter moldado a biologia humana, e parece ter se perdido com a industrialização.

Uma observação interessante, é que a sazonalidade pode modular o microbioma intestinal humano. Na população de Hadzas houve variação da família de *Prevotellaceae* durante os períodos de chuva e seca, reduzindo significativamente sua presença durante a estação molhada. Portanto, estas bactérias mostraram-se voláteis em sua abundância na mudança sazonal. Nesta sazonalidade, a coleta de frutas silvestres e o consumo de mel, são mais frequentes durante a estação chuvosa, enquanto a caça tem mais sucesso durante a seca. O consumo de tubérculos, ricos em fibras, e baobá ocorre o ano todo (Smits et al., 2017).

Essa descoberta indica que a volatilidade da abundância pode servir como um marcador para os micro-organismos que são vulneráveis à erradicação, por meio de várias perturbações, incluindo aquelas associadas à modernização. A partir desta observação, foi sugerida uma referência aos táxons que se perderam ou se tornaram raros no ecossistema intestinal industrializado, denominados, então, de táxons VANISH (Voláteis e/ou Associados Negativamente às Sociedades Industrializadas de Humanos). Esta classificação refere-se, especificamente, às famílias *Prevotellaceae*, *Succinivibrionaceae*, *Paraprevotellaceae* e *Spirochaetaceae* (Smits et al., 2017; Fragiadakis et al., 2018; Blaser, 2018).

Para identificar as possíveis influências do ambiente de caça e coleta no microbioma dos povos caçadores-coletores da Tanzânia, relacionados às famílias de bactérias voláteis, foi realizada uma investigação entre os Hadza, por Fragiadakis et al. (2018). Os Hadza consomem dieta composta principalmente de tubérculos, baobá, frutas vermelhas, mel e carne de caça. As análises foram realizadas na época das secas, com coletas intestinais e das mãos dos caçadores-coletores e, também, das amostras de mel, fezes, pelo e esfregaços estomacais dos animais caçados. Os animais coletados foram dik-dik (*Madoqua* sp.), kudu menor (*Tragelaphus 16mberbes*), impala (*Aepyceros* sp.), hyrax (*Heterohyrax brucei*), zebra (*Equus* sp.), vaca (*Bos taurus*) e macaco-vervet (*Chlorocebus pygerythrus*). As bactérias VANISH foram identificadas com mais frequência nas fezes dos animais, podendo representar um reservatório ambiental para as bactérias das famílias *Prevotellaceae*, *Paraprevotellaceae*, *Succinivibrionaceae* e *Spirochaetaceae* (Fragiadakis et al., 2018).

A água disponível na época da seca na Tanzânia na região dos Hadza também foi analisada. Coletadas de poço, riacho e leito de rio seco as amostras variavam de composição, mas possuíam altos níveis de *Prevotellaceae*, em torno de 10% de *Spirochaetaceae* e baixos níveis de *Paraprevotellaceae* (Fragiadakis et al., 2018).

Durante a maior parte da existência humana foram consumidos alimentos e água carregados de micro-organismos, muitos deles causadores de doenças, mas que faziam parte da exposição ambiental humana. A mudança recente para o consumo de alimentos e água, amplamente esterilizados, provavelmente também influenciou a microbiota (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019).

Na análise ambiental, a água mostra-se uma importante questão a ser considerada, já que uma das principais características da sociedade industrializada é a água sanitizada, onde diversos compostos químicos são utilizados para eliminar fontes de micro-organismos. Os compostos químicos residuais podem exercer influência e moldar o microbioma intestinal humano.

Ainda na população de caçadores-coletores da Tanzânia, foi realizado outro estudo no acampamento Ukamako. Os indivíduos deste acampamento consumiam principalmente baobá, raízes, frutos silvestres e mel. O estudo controlado baseou-se na mudança alimentar, com a oferta de milho de molho não moído no dia zero (“Dia 0”). Nos dias seguintes, o milho foi consumido no café da manhã, almoço e jantar. Foram analisadas amostras fecais nos dias anteriores (4 e 2 dias antes) e posteriores (2 e 4 dias depois) à chegada do milho para doze indivíduos; oito desses indivíduos foram amostrados em todos os cinco dias sequenciais (-4, -2, 0, 2, 4) antes e durante o consumo do milho. A análise das distâncias Unifrac não ponderadas revelou uma mudança no primeiro componente principal nas 24 h e 48 h após o consumo do milho, em relação aos dias anteriores ao consumo do milho, na maioria dos indivíduos. Estes dados sugerem que, mudanças na dieta produzem alterações rápidas na microbiota do acampamento Ukamako (Fragiadakis et al., 2018).

Os estudos de migração são muito interessantes para registrar a transição no microbioma intestinal. A imigração tem sido fundamental para a humanidade, uma vez que a espécie humana espalhou-se pelo mundo. A imigração moderna pode resultar na assimilação cultural, incluindo a adoção de novas dietas, estilo de vida e práticas médicas, como pode ser observado na Figura 5 (Sonnenburg & Sonnenburg, 2018).

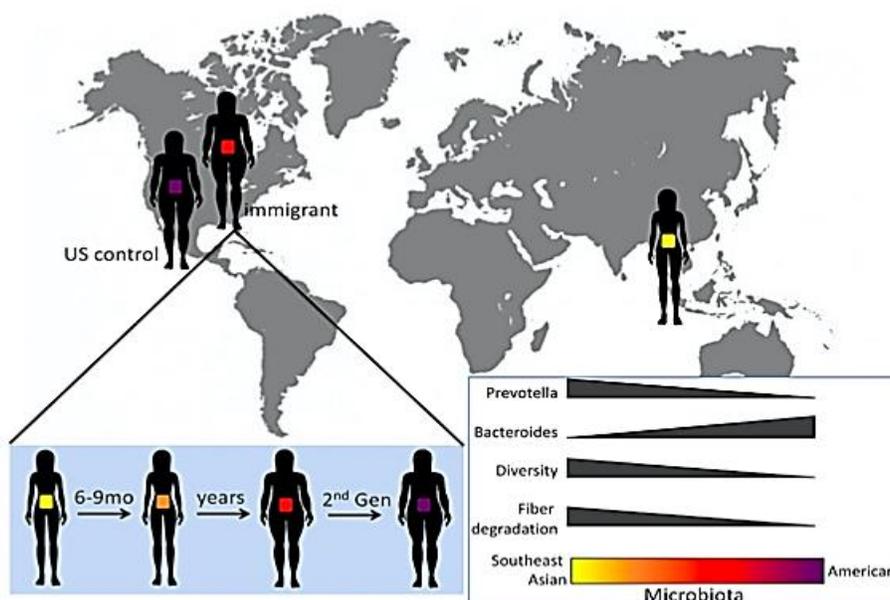


Figura 5 – Efeitos da emigração para os EUA na microbiota intestinal de indivíduos do sudeste da Ásia. Fonte: Sonnenburg e Sonnenburg (2018).

Estudo realizado por Vangay et al. (2018), objetivou verificar as mudanças ocorridas em decorrência da imigração de regiões mais remotas, e com características primitivas, para regiões ocidentais. Realizaram-se estudos relacionando a imigração humana da Tailândia para os Estados Unidos da América (EUA) e o impacto na mudança no perfil do microbioma intestinal. Recrutaram-se mulheres saudáveis nativas e residentes na Tailândia, nativas da Tailândia que migraram para os EUA, e descendentes de imigrantes nascidos nos EUA. Estes três grupos foram comparados com mulheres nativas norte americanas, saudáveis, com ascendência europeia, cujos pais e avós nasceram nos EUA.

Entre os registros alimentares dos nativos tailandeses e as gerações nascidas nos EUA, houve um aumento na variedade dos alimentos consumidos. Na composição do microbioma intestinal através de sequenciamento do gene 16S rRNA, foi identificado haver diferenças entre os microbiomas intestinais das populações nativas tailandesas para as norte-americanas. A maior diferença no microbioma intestinal ocorreu na comparação entre a primeira geração de imigrantes nascidos nos EUA com os nativos tailandeses. A diversidade e riqueza microbiana foram maiores nos nativos tailandeses e reduziram a cada geração nos EUA. Nos grupos, cujos indivíduos apresentaram-se obesos, também foi verificada uma menor diversidade filogenética, independente do grupo ao qual pertenciam. Houve redução de algumas espécies de bactérias na primeira geração, como no caso de *Faecalibacterium prausnitzii*, e de algumas do gênero *Prevotella*. O gênero *Bacteroides* associado aos indivíduos ocidentais, substituiu a redução do gênero *Prevotella* ao longo das gerações dos imigrantes nos EUA. Esta mudança foi observada em todos os imigrantes, e também nos que haviam recém-chegado aos EUA, e que formaram uma coorte longitudinal de estudo. A quantidade de cepas diferentes pertencentes a cada gênero também foi mais variada quanto mais abundante o gênero (Vangay et al., 2018).

Quanto ao perfil funcional do microbioma, nos nativos tailandeses, havia enriquecimento de vias de degradação de carboidratos mais complexos; já nos imigrantes, enriquecimento para a degradação de glicose/xilose/glicerol/sacarose, potencialmente relacionados ao aumento de consumo de alimentos açucarados. Considera-se que a perda de glicosídeos hidrolases pode estar associada à perda de fontes de fibra alimentar. As fibras promovem a persistência dos organismos que abrigam as enzimas. Esta redução esteve associada à redução nas espécies de *Prevotella copri* que possuíam as hidrolases relacionadas. Entretanto, a dieta explicou apenas 16,8% da variação total na análise de componentes principais (Vangay et al., 2018). Esses resultados provavelmente refletem o impacto de outros fatores associados ao estilo de vida industrializado sobre a microbiota (Sonnenburg & Sonnenburg, 2018).

Portanto, a migração populacional, de indivíduos de regiões com características não-ocidentalizadas para regiões com características ocidentalizadas, pode modificar o perfil do microbioma intestinal dos imigrantes, tendendo para um perfil mais ocidentalizado. Estas mudanças ocorrem desde curtos períodos após a chegada sendo ampliadas para níveis mais profundos da estrutura do microbioma com o passar do tempo e das gerações. Estas mudanças alteram não somente o perfil taxonômico, mas também o perfil funcional do microbioma, como a redução do perfil relacionado ao processamento de fibras, por exemplo (Vangay et al., 2018; Sonnenburg & Sonnenburg, 2018). Os autores relacionam estas mudanças observadas com o modelo proposto por Blaser e Falkow (2009) de desaparecimento de microbiota humana pelas grandes mudanças trazidas pelo progresso social e da medicina.

Outro estudo interessante que verificou este modelo de transição do microbioma intestinal, foi o realizado por Jha et al. (2018) onde se caracterizou a composição bacteriana das fezes de quatro populações do Himalaia, no Nepal. Estas foram comparadas com uma população americana com ascendência europeia. Os grupos do Himalaia levaram estilos de vida de caça-coleta seminômades até a transição para vários níveis de dependência agrícola.

Os Tharu começaram a cultivar alimentos há 250-300 anos, os Raute e os Raji possuíam estilo de vida misto (começaram a cultivar alimentos há 30 e 40 anos, respectivamente, mas ainda eram coletores) e os Chepang mantiveram aspectos de estilo de vida de caçadores-coletores, mas já produziam cultivos de subsistência (Jha et al., 2018).

Os resultados indicaram que os indivíduos Chepang possuíam um microbioma intestinal relacionado à elevada abundância de táxons de populações de caçadores-coletores. Os Tharu assemelham-se ao microbioma da população industrializada devido à mudança para o estilo de vida com dependência agrícola. Os Raute e os Raji, que fizeram a transição há menos tempo, possuem um padrão de microbiota intermediário entre os agricultores e os tradicionais (Jha et al., 2018).

Este estudo é interessante devido à semelhança genética compartilhada entre as populações estudadas e o compartilhamento da mesma região geográfica. A comparação dessas populações tradicionais do Himalaia com americanos industrializados mostrou que todas as quatro populações do Himalaia exibiram distâncias muito maiores dos americanos do que quando comparadas umas às outras. Os Chepang eram os mais distantes dos americanos, seguidos pelos Raute, enquanto os Raji e os Tharu eram igualmente próximos dos americanos (Jha et al., 2018).

As populações do Himalaia foram caracterizadas por maior abundância de *Proteobacteria*, enquanto as abundâncias de *Actinobacteria*, *Firmicutes* e *Verrucomicrobia* foram maiores nos americanos ocidentais, intermediárias nos fazendeiros (Tharu, Raji e Raute) e menores nas forrageadoras Chepang. Níveis mais altos de *Proteobacteria* e níveis mais baixos de *Actinobacteria* e *Verrucomicrobia* são características comuns de muitos microbiomas intestinais humanos tradicionais em todo o mundo. Chepang foram enriquecidas com *Ruminobacter*, *Campylobacter* e *Treponema* em relação aos agricultores Tharu (Jha et al., 2018).

No filo dos *Bacteroidetes* as comunidades rurais do Himalaia foram enriquecidas em *Prevotella*, *Alloprevotella* e *Anaerophaga* e significativamente esgotadas em *Bacteroides*, *Alistipes*, *Butyricimonas*, *Odoribacter* e *Barnesiella*. Os americanos mostraram maiores abundâncias de *Bifidobacterium* (*Actinobacteria*) e *Akkermansia* (*Verrucomicrobia*), ambas extremamente baixas nas forrageadoras Chepang e intermediárias nos fazendeiros Tharu. Abundâncias elevadas de *Treponema* e *Prevotella* com redução de *Bacteroides* e *Bifidobacterium* é uma característica dos microbiomas intestinais de comunidades forrageiras (Jha et al., 2018).

Com as populações do Himalaia, os autores queriam determinar se as redes microbianas também estavam associadas aos diferentes estilos de vida. Foram calculadas as correlações entre todos os pares de gêneros intestinais usando SparCC, que revelou sete grupos de coabundância bacteriana (CAG). Os gêneros dominantes que definiram estes CAGs foram *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Roseburia*, *Escheria/Shigella*, *Suturella*, *Prevotella* e *Dialister*. O CAG dominado por *Prevotella* foi mais proeminente nas populações mais tradicionais (Chepang e Raute), enquanto os membros do CAG dominados por *Bacteroides* são elevados no Raji e Tharu. Por outro lado, o intestino americano é altamente empobrecido do *Prevotella* CAG sendo dominado pelo CAG *Bacteroides*. Esta graduação pode ser observada na Figura 6, onde as forrageadoras Chepang apresentam proporção elevada do CAG magenta, dominado por *Prevotella*, *Succinivibrio*, *Ruminobacter* e *Treponema*. Este CAG diminui nos agricultores Raute, Raji e Tharu com aumento simultâneo no CAG azul, dominado por *Bacteroides*, *Faecalibacterium* e *Bifidobacterium*. O intestino americano é dominado pelo CAG azul e altamente empobrecido do CAG magenta (Jha et al., 2018).

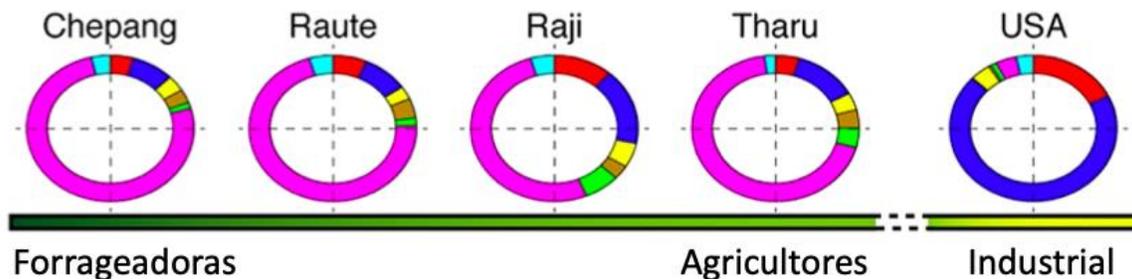


Figura 6 – Proporções dos diferentes CAGs conforme o estilo de vida.

Estudo recente e inovador, realizado por Wibowo et al. (2021), reconstruiu genomas microbianos humanos a partir de fezes de indivíduos paleolíticos (paleofezes). Então, 8 amostras de paleofezes foram comparadas com amostras de populações atuais não industriais (22 do México, 174 de Fiji, 36 do Peru, 112 de Madagascar e 27 da Tanzânia), e amostras de populações atuais industriais (147 dos EUA do HMP, 22 dos EUA, 109 da Dinamarca e 140 da Espanha). A composição taxonômica das paleofezes foi mais semelhante com as amostras não industriais do que com as industriais. Nenhum dos filos foi significativamente diferente entre as paleofezes e as amostras não industriais. Em contraste, *Bacteroidetes* e *Verrucomicrobia* estiveram enriquecidos nas amostras industriais em comparação com as paleofezes e as amostras não industriais. *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Spirochaetes* estiveram significativamente menos abundantes nas amostras industriais em relação às paleofezes e nas amostras não industriais. No nível familiar, os membros dos táxons VANISH foram significativamente enriquecidos nas amostras de paleofezes em relação às amostras industriais. Em contraste, os membros das famílias da taxa de BloSSUM (florescimento/selecionados em sociedades de urbanização e modernização) estiveram mais abundantes nas amostras industriais em comparação com as amostras não industriais e as amostras de paleofezes, como as *Bacteroidaceae* e *Verrucomicrobiaceae*. Em comparação com as amostras não industriais, apenas *Spirochaetaceae* é enriquecido nas paleofezes (Wibowo et al., 2021).

A análise de componentes principais, ao nível de espécie, mostra que as amostras de paleofezes agrupam-se com as amostras não industriais, e são distintas das amostras industriais. As espécies enriquecidas nas amostras industriais, em relação às paleofezes e às não industriais, incluem *Akkermansia muciniphila* e membros dos gêneros *Alistipes* e *Bacteroides*. Por outro lado, *Ruminococcus champanellensis* e membros do gênero *Enterococcus* são enriquecidos nas paleofezes em comparação com as amostras não industriais e industriais. A espécie *Treponema succinifaciens* é enriquecida tanto nas

paleofezes quanto nas amostras não industriais em relação às amostras industriais. *Treponema succinifaciens* e, de forma geral, o filo *Spirochaetes* foram propostos como VANISH (Wibowo et al., 2021).

Foi construída uma árvore filogenética para os genomas bacterianos do intestino filtrado de alto dano e 4.930 genomas de referência, representativos do microbioma humano. Os resultados indicam que os genomas antigos abrangem muitos filos associados ao microbioma intestinal humano, incluindo *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria*. Árvores filogenéticas, para *Prevotella* e *Ruminococcus*, mostram que os genomas antigos não se agrupam intimamente com os genomas de referência atuais. Esses resultados suportam que o microbioma intestinal humano industrial divergiu de seu estado ancestral (Wibowo et al., 2021).

Uma das marcas da influência da dieta industrializada no microbioma intestinal é o muco do hospedeiro, que serve como fonte alimentar de reserva para os micro-organismos intestinais quando a fibra dietética é limitada. A seleção de bactérias que utilizam muco em populações industrializadas é evidente no enriquecimento de *Akkermansia muciniphila* (filo *Verrucomicrobia*), que foi encontrada em uma comparação mundial de microbiomas industrializados e não industrializados (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019).

Na população brasileira, alguns estudos foram realizados para caracterizar as diferenças entre os indivíduos com características mais tradicionais ou em transição para um ambiente industrializado.

Os Yanomami são o maior grupo indígena semi-isolado da Amazônia a manter práticas tradicionais de subsistência baseadas na caça, pesca, coleta e roça. As principais diferenças entre o microbioma intestinal desses grupos são que os indivíduos caçadores-coletores/agricultores rurais abrigam um microbioma intestinal mais diverso, com níveis mais elevados de bactérias degradadoras de fibras e táxons que estão esgotados nas populações urbanas industrializadas. Possuem dieta pobre em gordura e sal e rica em frutas, fibras e animais silvestres (Conteville et al., 2019).

A alimentação deste povo é caracterizada pelo consumo de sementes, raízes e seus derivados, frutos da floresta (mel, raízes, frutos de palmeiras), caça (cobras, porcos selvagens, macacos, veados, onças, insetos, larvas) e pesca (peixe, caranguejos). A água potável é captada diretamente de poços e riachos desprotegidos. Consomem bebidas alcoólicas elaboradas por eles mesmos e, desde a infância, possuem o hábito de manter na boca tabaco enrolado em cinzas. Mas já há a introdução de alimentos industrializados, como arroz e feijão, e o uso de alguns medicamentos da medicina moderna que podem influenciar na composição do microbioma intestinal desta população (Alencar, 2017; Conteville et al., 2019).

Alencar (2017) realizou estudo de caracterização taxonômica do microbioma bacteriano intestinal de indígenas Yanomami na Amazônia brasileira, nos estados de Roraima e Amazonas, e comparou com a de indivíduos não-Yanomami moradores da cidade de Manaus, no Amazonas. Utilizando sequenciamento para a região 16S do rRNA.

Verificou-se, ao nível de filo, maior abundância relativa de *Bacteroidetes*, seguida pela de *Firmicutes* nos indígenas Yanomami em todas as idades. Nos indivíduos não-Yanomami urbanos houve maior abundância destes mesmos filós em bebês, crianças e adultos, mas em idosos esta distribuição se inverteu. Na análise dos gêneros presentes no microbioma identificaram 71 gêneros, sendo 6 destes exclusivos para os Yanomami (*Pluralibacter*, *Exiguobacterium*, *Rhodococcus*, *Peptostreptococcus*, *Succinivibrio* e *Treponema*) e 5 para indivíduos urbanos de Manaus (*Turcibacter*, *Mitsuokella*, *Pseudoflavonifractor*, *Parasutterella* e *Megamonas*), portanto, 60 foram compartilhados.

Houve maior abundância relativa do gênero *Prevotella*, *Lactobacillus* e *Bl autia* na população indígena Yanomami quando comparada com indivíduos não-Yanomami urbanos, cuja maior abundância foi do gênero *Bacteroides* em todas as idades. Verificou-se maior diversidade alfa para a população indígena analisada em todas as faixas etárias. Esta relação indica que a população indígena Yanomami ainda apresenta características de microbioma intestinal dos povos caçadores-coletores.

Em estudo realizado por Conteville, Oliveira-Ferreira e Vicente (2019), o microbioma intestinal dos povos indígenas Yanomami, que vivem na Floresta Amazônica brasileira, foi comparado com os que vivem na Venezuela, com os povos Matses da Amazônia Peruana, com os Tunapuco do planalto andino e com um grupo urbano-industrializado dos Estados Unidos (HMP). Foi utilizada a tecnologia de whole genome sequencing shotgun (WGS). Entre os povos tradicionais Yanomami brasileiros e venezuelanos houve diferenças na funcionalidade do microbioma. Os pesquisadores sugeriram que, apesar de compartilhar o estilo de vida e a herança genética, as diferenças poderiam ser reflexo da diversidade ambiental e sazonal dos nichos explorados por cada população entre os Yanomami brasileiros e venezuelanos. Foi possível identificar que o valor da diversidade alfa² para os povos tradicionais é maior que o da população urbana industrializada. Em relação à diversidade beta², os indivíduos Yanomami e os demais povos tradicionais

² Diversidade alfa e beta são medidas ecológicas que descrevem as propriedades gerais da comunidade analisada, além de permitir a comparação entre as diferentes amostras relacionadas a gradientes bióticos, abióticos, perturbações, produtividade, área e heterogeneidade de recursos. A diversidade alfa combina dois aspectos distintos, a riqueza e a uniformidade (HUGHES, 2001). Já a beta diversidade revela quão similares ou quão diferentes são as amostras analisadas, é uma medida de distâncias (TANG et al., 2016).

possuem maior variação interpessoal quando comparados aos da população urbana. Mas de forma geral, o perfil do microbioma intestinal é compartilhado entre os povos tradicionais sul-americanos e africanos, já estudados na literatura científica e descritos neste trabalho.

Quando comparados os perfis taxonômicos dos grupos tradicionais e urbano, observou-se uma diferença nítida ao nível de filo, sendo que os tradicionais Yanomamis, Matses e Tunapuco obtiveram maior abundância relativa de *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* e *Spirochaetes*, sendo que o grupo urbano se caracterizou principalmente por Bacteroidetes. Nos Yanomamis brasileiros e venezuelanos o filo *Proteobacteria* foi o mais prevalente. A distribuição de gêneros nos grupos tradicionais se deu de formas distintas, não havendo homogeneidade entre os povos. Os gêneros *Treponema* e *Brachyspira* (filo *Spirochaetes*) foram identificados em Yanomamis brasileiros e venezuelanos, assim como nos demais grupos tradicionais, mas não no grupo urbano. Os padrões taxonômicos gerais, observados no microbioma intestinal dos grupos tradicionais da América do Sul, se assemelham aos perfis do microbioma intestinal de grupos tradicionais da África Ocidental, Central e Oriental, embora cada um deles tenha características únicas. Apesar de pertencerem a grupos étnicos distintos, vivem e exploram ecossistemas diferentes, mantêm um modo de subsistência tradicional e não têm acesso a alimentos processados e refinados diariamente. Por este motivo as autoras afirmam que o estilo de vida populacional é um dos principais determinantes da composição e diversidade do microbioma intestinal, sobrepondo-se aos antecedentes genéticos e à origem geográfica (Conteville et al., 2019).

3. IMPACTO DA TRANSIÇÃO DO MICROBIOMA INTESTINAL

A microbiota abrigada por humanos habitantes no mundo industrializado tem uma configuração não experimentada antes da revolução industrial. Nas cidades mais populosas, a urbanização, industrialização da alimentação, desenvolvimento tecnológico, práticas de higiene e saneamento, assim como as práticas médicas que perpassam gerações, limitaram a exposição aos micro-organismos patogênicos (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019).

Os avanços, visando melhorar a qualidade de vida e a longevidade, foram implementados na ausência da compreensão dos possíveis danos colaterais infligidos aos micro-organismos simbiotes, residentes no corpo humano ou da importância destes para a saúde. O resultado foram reconfigurações do ecossistema (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019).

Neste contexto, a microbiota intestinal emergiu como um modulador crítico e indicador da saúde humana e de doenças (Schmidt et al., 2018). A nova relação simbiótica ou anfibiótica estabelecida pela sociedade moderna pode conectar a microbiota aos desfechos de doenças crônicas causadas pela inflamação. Notavelmente as doenças crônicas modernas se propagam com os fatores de estilo de vida conhecidos por alterar a microbiota. Embora os pesquisadores tenham descoberto os princípios básicos de como a microbiota influencia a saúde humana, há uma percepção crescente de que, à medida que o estilo de vida industrial se espalha globalmente, as mudanças na microbiota humana podem ser centrais para a disseminação do fator não-transmissível relacionado às doenças crônicas e que não podem ser facilmente revertidas (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019).

Embora muitas ligações associativas e causais tenham sido estabelecidas entre a microbiota e os resultados de saúde, os táxons microbianos, a funcionalidade e os estados metabólicos, protetores ou impulsionam o desenvolvimento de doenças, são mal compreendidos (Fragiadakis et al., 2018). Não está claro se as mudanças do microbioma causam a doença ou vice-versa, ou se o estado da doença e os efeitos do microbioma observados são causados por um terceiro fator (Schmidt et al., 2018).

Ainda é preciso aprender a distinguir melhor entre simbiontes, patógenos e anfibiotes e avaliar se e quais micro-organismos ou vias metabólicas eliminar, deixar de lado ou restaurar. É necessário refletir se é sensato contemplar qualquer ação até que seja possível entender mais sobre os mesmos. Uma maior compreensão das características do genoma e da microbiota de um hospedeiro, e suas interações, levará a abordagens individualizadas para a prevenção e tratamento de doenças específicas. É uma fronteira científica. Olhar para as populações, em todo o mundo, que foram minimamente afetadas pela industrialização, pode servir como um modelo para identificar organismos críticos e funcionalidade perdida nas populações industrializadas (Blaser & Falkow, 2009; Fragiadakis et al., 2018).

Entretanto, ainda não se sabe se a microbiota encontrada em populações tradicionais, que compartilha mais semelhanças com a dos antepassados, melhoraria a saúde dos indivíduos que vivem em uma sociedade industrializada. Se a perda ou redução de taxa de VANISH causa, ou contribui, para a carga crescente de doenças crônicas não-transmissíveis em humanos, ainda não foi determinada. Determinar a importância potencial da taxa VANISH para a biologia humana exigirá esforços para manter sua diversidade antes que ela seja perdida. Agir para minimizar a perda não intencional de biodiversidade é provavelmente uma estratégia sábia até que saibamos mais (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019; Wibowo et al., 2021).

Sugere-se que uma dieta rica em alimentos integrais e pobre em alimentos processados, com o aumento da exposição a micro-organismos não patogênicos, por alimentos fermentados, possa ser benéfica para as populações industriais (Wastyk et al, 2021). Restaurar o consumo de micro-organismos não causadores de doenças pode amenizar doenças que são comuns entre as populações que consomem alimentos e água esterilizados, mas sem arriscar o aumento de doenças infecciosas ao reduzir os padrões de saneamento, por isso é necessária uma melhor compreensão de como as práticas higiênicas moldam nossa microbiota, e o impacto resultante na saúde humana (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019). A aplicação criteriosa da teoria ecológica pode levar a melhores estratégias para restaurar e manter a microbiota e os serviços ecossistêmicos associados à saúde que ela fornece (Costello et al., 2012).

Uma das maneiras indicadas para melhorar a composição do microbioma intestinal humano, mesmo em populações mais industrializadas é através do consumo de alimentos não processados ou minimamente processados e ricos em fibras. Mas um dos grandes desafios mundiais hoje é a conscientização em relação aos hábitos alimentares. Mesmo uma dieta baseada em plantas pode prejudicar a microbiota intestinal, se for rica em alimentos cultivados com pesticidas.

Quando se faz reflexão sobre as origens ambientais das doenças humanas, fazemos referência à ciência da exposição. É necessário treinar o olhar a uma grande variedade de fatores de exposição (externa geral, externa específica, interna) e a ciência moderna tem utilizado ferramentas genômicas, como a toxicogenômica, para avançar neste sentido. A totalidade das exposições humanas, durante toda a vida, é denominado “expossoma”, do inglês, “*exposome*” (Olympio et al., 2019).

O expossoma gastrointestinal representa a exposição luminal do intestino a fatores exógenos e endógenos no hospedeiro durante toda a vida. Em resposta à exposição da mucosa dietética, a resiliência do microbioma pode ser desenvolvida. O grau de resiliência é a quantidade de estresse ou perturbação que um sistema pode tolerar às mudanças para um estado estável de equilíbrio. A diversidade de espécies microbianas é crucial para a manutenção da resiliência, uma vez que comunidades ricas em espécies contendo micro-organismos que utilizam eficientemente os recursos limitantes são menos suscetíveis à invasão por patógenos. Além disso, a diversidade funcional também é importante para manter a resiliência do microbioma. Bactérias adaptadas ao intestino humano são propensas a mostrar redundância funcional, embora sejam filogeneticamente díspares. Os componentes xenobióticos representativos no expossoma da mucosa incluem drogas, nutrientes e outros fatores adversos, como patógenos de origem alimentar, toxinas biológicas e outros contaminantes sintéticos. O expossoma gastrointestinal é a integração dos

componentes externos com todo o microbioma da mucosa que funciona tanto na fisiologia quanto na patologia intestinal durante toda a vida. A ruptura da mucosa associada ao exossoma da mucosa pode resultar em vários tipos de doenças humanas (Moon, 2016).

A exposição humana à pesticidas tem sido associada a uma variedade de doenças desencadeadas por intoxicação aguda ou mesmo crônica, devido à exposição prolongada por alimentos com o uso excessivo de pesticidas durante seu cultivo. Esses fatores de origem alimentar podem influenciar a composição e a diversidade de micro-organismos intestinais, e podem impactar nas respostas imunes e neuroendócrinas no intestino por meio de vários tipos de citocinas, hormônios e outras moléculas mensageiras. Um estudo realizado no Reino Unido, com gêmeos adultos identificou que a exposição a determinados pesticidas está relacionada à dieta (Mesnage et al., 2022).

Estudos anteriores também mostraram que indivíduos que ingerem uma dieta orgânica apresentam níveis mais baixos de pesticidas na urina do que aqueles que comiam produtos convencionais não orgânicos (Mie et al., 2017). Isso pode apontar para uma possível fonte de riscos à saúde, pois a exposição a organofosforados durante períodos sensíveis da vida tem sido associada a uma variedade de doenças, como problemas neurocomportamentais, principalmente após a exposição pré-natal (Bouchard et al., 2011). De acordo com esses estudos, o consumo de frutas e legumes é a principal fonte de exposição a pesticidas no Reino Unido. O impacto nocivo dos xenobióticos no meio ambiente e na saúde humana está sendo mais amplamente reconhecido e em relação ao microbioma não difere (Abdelsalam et al., 2020). Uma dieta que aparentemente seria benéfica para a diversidade e a funcionalidade da microbiota intestinal, pode estar influenciando de maneira negativa na resiliência dos micro-organismos presentes no intestino humano e contribuindo para a perda de espécies ancestrais que faziam parte da diversidade do microbioma. Essa perda não se verifica apenas no ecossistema humano, mas no ambiente todo. A utilização em massa de pesticidas e substâncias químicas pode estar diminuindo de maneira significativa o número de espécies existentes.

Nesse especto, torna-se essencial uma abordagem sistêmica em relação ao estudo do microbioma. O entendimento da composição e funcionalidade da microbiota humana nas diferentes populações é o primeiro passo para a identificação dos diferentes aspectos que impactam e influenciam na formação e manutenção de um microbioma saudável.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

Abdelsalam, Nehal Adel; Ramadan, Ahmed Tarek; Elrakai, Marwa Tarek; Aziz, Ramy Karam (2020). Toxicomicrobiomics: the human microbiome vs pharmaceutical, dietary, and environmental xenobiotics. *Frontiers In Pharmacology*, 11, 1-17. <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2020.00390>.

Alencar, Rodrigo Maciel. (2017). Caracterização taxonômica do microbioma bacteriano intestinal de comunidades ameríndias na Amazônia brasileira. 93 f. *Dissertação (Mestrado) – Curso de Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Recursos, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus*, 2017.

Bouchard, Maryse F.; Chevrier, Jonathan; Harley, Kim G.; Kogut, Katherine; Vedar, Michelle; Calderon, Norma; Trujillo, Celina; Johnson, Carlina; Bradman, Asa; Barr, Dana Boyd. (2011). Prenatal Exposure to Organophosphate Pesticides and IQ in 7-Year-Old Children. *Environmental Health Perspectives*, 119(8), 1189-1195. <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1003185>.

Blaser, Martin J.; Falkow, Stanley. (2009). What are the consequences of the disappearing human microbiota? *Nature Reviews Microbiology*, 7(12), 887-894. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2245>

Blaser, Martin J. (2018). The Past and Future Biology of the Human Microbiome in an Age of Extinctions. *Cell*, 172(6), 1173-1177. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.040>

Contevelle, Liliane Costa; Oliveira-Ferreira, Joseli; Vicente, Ana Carolina Paulo. (2019). Gut Microbiome Biomarkers and Functional Diversity Within an Amazonian Semi-Nomadic Hunter-Gatherer Group. *Frontiers In Microbiology*, (10), 1-10. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.01743>

Costello, Elizabeth K.; Stagaman, Keaton; Dethlefsen, Les; Bohannan, Brendan J. M.; Relman, David A. (2012). The Application of Ecological Theory Toward an Understanding of the Human Microbiome. *Science*, 336(6086) 1255-1262. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1224203>

Danko, David *et al.* (2021). A global metagenomic map of urban microbiomes and antimicrobial resistance. *Cell*, 184(13), 3376-3393. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2021.05.002>

Fragiadakis, Gabriela K.; Smits, Samuel A.; Sonnenburg, Erica D.; Van Treuren, William; Reid, Gregor; Knight, Rob; Manjuran, Alphaxarç; Chantalucha, John; Dominguez-Bello, Maria Gloria; Leach, Jeff. (2018). Links between environment, diet, and the hunter-gatherer microbiome. *Gut Microbes*, 10(2), 216-227. <http://dx.doi.org/10.1080/19490976.2018.1494103>

Gilbert, Jack; Blaser, Martin J.; Caporaso, J Gregory; Jansson, Janet K.; Lynch, Susan V.; Knight, Rob. (2018). Current understanding of the human microbiome. *Nature Medicine*, 24(4), 392-400. <http://dx.doi.org/10.1038/nm4517>

Gupta, Vinod K.; Paul, Sandip; Dutta, Chitra. (2017). Geography, Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity. *Frontiers In Microbiology*, 8, 1-16. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2017.01162>

Hughes, Jennifer B; Hellmann, Jessica J; Ricketts, Taylor H; Bohannan, Brendan J. M (2001). Counting the Uncountable: statistical approaches to estimating microbial diversity. *Applied And Environmental Microbiology*, 67(10), 4399-4406. <http://dx.doi.org/10.1128/aem67.10.4399-4406.2001>.

Huttenhower, Curtis *et al.* (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486(7402), 207-214. <http://dx.doi.org/10.1038/nature11234>

Jha, Aashish R; Davenport, Emily R; Gautam, Yoshina; Bhandari, Dinesh; Tandukar, Samila; Ng, Katharine M; Fragiadakis, Gabriela K; Holmes, Susan; Gautam, Guru Prasad; Leach, Jeff. (2018). Gut microbiome transition across a lifestyle gradient in Hmalaya. *PLoS Biology*, 16(11), 1-30. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.2005396>

Ley, Ruth E; Turnbaugh, Peter J; Klein, Samuel; Gordon, Jeffrey I. (2006). Human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444(7122) 1022-1023. <http://dx.doi.org/10.1038/4441022a>

Lloyd-Price, Jason *et al.* (2017). Strains, functions and dynamics in the expanded Human Microbiome Project. *Nature*, 550(7674), 61-66. <http://dx.doi.org/10.1038/nature23889>

Mesnage, Robin; Bowyer, Ruth C. E; Balkhi, Souleiman E; Saint-Marcoux, Franck; Gardere, Arnaud; Ducarmon, Quinten Raymond; Geelen, Anocim Rebecca; Zwitterink, Romy Daniëlle; Tsoukalas, Dimitris; Sarandi, Evangelia. Impacts of dietary exposure to pesticides on faecal microbiome metabolism in adult twins. *Environmental Health*, 21(1), 1-12. <http://dx.doi.org/10.1186/s12940-022-00860-0>.

Me, Axel; Andersen, Helle Raun; Gunnarsson, Stefan; Kahl, Johannes; Kesse-Guyot, Emmanuelle; Rembiakowska, Ewa; Quaglio, Gianluca; Grandjean, Philippe. (2017). Human health implications of organic food and organic agriculture: a comprehensive review. *Environmental Health*, 16(1), 1-22. <http://dx.doi.org/10.1186/s12940-017-0315-4>.

Moon, Yuseok. (2016). Microbiome-Linked Crosstalk in the Gastrointestinal Exposome towards Host Health and Disease. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*, 19(4), 221-228. <http://dx.doi.org/10.5223/pghn.2016.19.4.221>.

Mossavi, Shirin. (2014). The Necessity for an Iranian Gut Microbiome Initiative. *Middle East Journal of Digestive Diseases*, Iran, v. 6, n. 2, p. 109-110, abr. 2014.

Olympio, Kelly Polido Kaneshiro; Salles, Fernanda Junqueira; Ferreira, Ana Paula Sacone Da Silva; Pereira, Elizeu Chiodi; Oliveira, Allan Santos De; Leroux, Isabelle Nogueira; Vieira, Flávia Bosquê Alves. (2019). The human exposome unraveling the impact of environment on health. *Revista de Saúde Pública*, 53, 6-13. <http://dx.doi.org/10.11606/s1518-8787.2019053000649>.

Proctor, Lita M (2011). The Human Microbiome Project in 2011 and Beyond. *Cell Host & Microbe*, 10(4), 287-291. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.001>

Proctor, Lita M *et al.* (2019). The Integrative Human Microbiome Project. *Nature*, 569(7758), 641-648. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-019-1238-8>

Qin, Junjie *et al.* A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464(7285), 59-65. <http://dx.doi.org/10.1038/nature08821>

Reyes, Alejandro; Haynes, Matthew; Hanson, Nicole; Angly, Florent E; Heath, Andrew C; Rohwer, Forest; Gordon, Jeffrey I. (2010). Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature*, 466(7304), 334-338. <http://dx.doi.org/10.1038/nature09199>

Savage, D. C. (1977). Microbial Ecology of The Gastrointestinal Tract. *Annual Review of Microbiology*, 31(1), 107-133. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.mi.31.100177.000543>

Schmidt, Thomas S.B; Raes, Jeroen; Bork, Peer. (2018). The Human Gut Microbiome: from association to modulation. *Cell*, 172(6), 1198-1215. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.044>

Sender, Ron; Fuchs, Shai; Milo, Ron. (2016). Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. *Cell*, 164(3), 337-340. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.013>

Smits, Samuel A; Leach, Jeff; Sonnenburg, Erica D; Gonzalez, Carlos G; Lichtman, Joshua S; Reid, Gregor; Knight, Rob; Manjuran, Alphaxard; Changalucha, John; Elias, Joshua E (2017). Seasonal cycling in the gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers of Tanzania. *Science*, 357(6353), 802-806. <http://dx.doi.org/10.1126/science.aan4834>

Sonnenburg, Justin L; Sonnenburg, Erica D (2019). Vulnerability of the industrialized microbiota. *Science*, 366(6464), 1-8. <http://dx.doi.org/10.1126/science.aaw9255>

Sonnenburg, Justin; Sonnenburg, Erica. (2018). A Microbiota Assimilation. *Cell Metabolism*, 28(5), 675-677. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2018.10.010>

Tang, Zheng-Zheng; Chen, Guanhua; Alekseyenko, Alexander V. (2016). PERMANOVA-S association test for microbial community composition that accommodates confounders and multiple distances. *Bioinformatics*, 32(17), 2618-2625. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btw311>.

Tumbaugh, Peter J; Ley, Ruth E; Hamady, Michael; Fraser-Liggett, Claire M; Knight, Rob; Gordon, Jeffrey I. (2007). The Human Microbiome Project. *Nature*, 449(7164), 804-810. <http://dx.doi.org/10.1038/nature06244>

Tumbaugh, Peter J; Ley, Ruth E; Mahowald, Michael A; Magrini, Vincent; Mardis, Elaine R; Gordon, Jeffrey I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*, 444(7122), 1027-1031 <http://dx.doi.org/10.1038/nature05414>

Vangay, Pajau; Johnson, Abigail J; Ward, Tonya L; Al-Ghalith, Gabriel A; Shields-Outler, Robin R; Hillmann, Benjamin M; Lucas, Sarah K; Beura, Lalit K; Thompson, Emily A; Till, Lisa M (2018). US Immigration Westernizes the Human Gut Microbiome. *Cell*, 175(4), 962-972. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2018.10.029>

Wastyk, Hannah C; Fragiadakis, Gabriela K; Perelman, Dalia; Dahan, Dylan; Merrill, Bryan D; Yu, Feiqiao B; Topf, Madeline; Gonzalez, Carlos G; Van Treuren, William Han, Shuo. (2021). Gut-microbiota-targeted diets modulate human immune status. *Cell*, 184(16), 4137-4169. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2021.06.019>.

Whitman, W B; Coleman, D C; Webe, W J. (1998). Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 95(12), 6578-6583. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.95.12.6578>

Wibowo, Marsha C; Yang, Zhen; Borry, Maxime; Hübner, Alexander; Huang, Kun D; Tierney, Braden T.; Zimmerman, Samuel; Barajas-Olmos, Francisco; Contreras-Cubas, Cecilia; García-Ortiz, Humberto. (2021). Reconstruction of ancient microbial genomes from the human gut. *Nature*, 594(7862), 234-239. <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-021-03532-0>

Xie, Hailiang; Guo, Ruijin; Zhong, Huanzi; Feng, Qiang; Lan, Zhou; Qin, Bingcai; Ward, Kirsten J.; Jackson, Matthew A; Xia, Yan; Chen, Xu. (2016). Shotgun Metagenomics of 250 Adult Twins Reveals Genetic and Environmental Impacts on the Gut Microbiome. *Cell Systems*, 3(6), 572-584. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cels.2016.10.004>.