

SAÚDE E AMBIENTE

V.8 • N.2 • 2020 - Fluxo Contínuo

ISSN Digital: 2316-3798

ISSN Impresso: 2316-3313

DOI: 10.17564/2316-3798.2020v8n2



POPULAÇÃO DE *LACTOBACILLUS* SP. EM PORTADORES DE DIABETES MELLITUS COMPARADO A INDIVÍDUOS NORMOGLICÊMICOS

POPULATION OF *LACTOBACILLUS* SP. IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS COMPARED TO NORMOGLYCEMIC INDIVIDUALS

POBLACIÓN DE *LACTOBACILLUS* SP. EM PORTADORES DE DIABETES MELLITUS EM COMPARACIÓN COM INDIVÍDUOS NORMOGLUCÊMICOS

Bruna da Costa Vieira¹
Mariana Felgueira Pavanelli²

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo analisar a população de *Lactobacillus* sp. intestinais de portadores de diabetes mellitus (DM) comparando aos indivíduos normoglicêmicos. Foi realizada uma pesquisa com portadores de DM (GD) e não portadores (GN), de ambos os sexos, maiores de 18 anos, os quais responderam um questionário sobre variáveis sociodemográficas e questões relacionadas ao DM. Também foram analisadas amostras de fezes quanto à presença de *Lactobacillus* sp. Cada grupo avaliado foi composto por 15 pessoas com percentual homogêneo de homens e mulheres. A média de idade do grupo GN foi de $29,8 \pm 10,0$ anos, e $64,7 \pm 13,1$ anos do grupo GD. No GD teve predominância do DM tipo II e a média de doença foi de 10 anos. O GD apresentou uma microbiota com percentual de *Lactobacillus* sp. maior que no GN e o uso de probióticos foi maior no grupo GN, porém ambos os grupos utilizavam de forma esporádica. Conclui-se que os portadores de DM, independentes do tipo, apresentaram maior quantidade de *Lactobacillus* sp. comparados aos indivíduos normoglicêmicos e o uso de probióticos não alterou a microbiota intestinal, provavelmente devido seu uso esporádico.

PALAVRAS-CHAVE

Bactérias. Diabetes. Glicemia. Microbiota. Probióticos.

ABSTRACT

The present study aimed to analyze the difference between the population of *Lactobacillus* sp. in patients with diabetes mellitus (DM) compared to normoglycemic individuals. A survey was carried out with carriers (GD) and non-carriers (GN) of DM, of both sexes, over 18 years old, who answered a questionnaire about socio-demographic variables and questions related to DM. Stool samples were also analyzed for the presence of *Lactobacillus* sp. Each group evaluated had 15 people with a homogeneous percentage of men and women. The average age of the GN group was 29.8 ± 10.0 years against 64.7 ± 13.1 years of the GD. In the GD there was a predominance of type II DM, and the average time of disease was 10 years. The GD presented a microbiota with percentage of *Lactobacillus* sp. higher than in the GN group and the use of probiotics was higher in the GN, but both groups used it sporadically. It was concluded that the DM carriers, independent of the type, presented higher amount of *Lactobacillus* sp. compared to normoglycemic individuals, and the use of probiotics did not alter the intestinal microbiota, probably due to their sporadic use.

KEYWORDS

Bacteria. Diabetes. Blood Glucose. Microbiota. Probiotics.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo analizar la población de *Lactobacillus* sp. pacientes con diabetes mellitus (DM) en comparación con individuos normoglucémicos. Se realizó una encuesta con operadores (DG) y no operadores (GN), de ambos sexos, mayores de 18 años, que respondieron un cuestionario sobre variables sociodemográficas y preguntas relacionadas con la DM. Las muestras de heces también se analizaron para detectar la presencia de *Lactobacillus* sp. Cada grupo evaluado consistió en 15 personas con un porcentaje homogéneo de hombres y mujeres. La edad media del grupo GN fue 29.8 ± 10.0 años, y 64.7 ± 13.1 años del grupo GD. En DG hubo un predominio de DM tipo II, y la enfermedad promedio fue de 10 años. El GD presentó una microbiota con porcentaje de *Lactobacillus* sp. mayor que en GN y el uso de probióticos fue mayor en el grupo GN, pero ambos grupos lo usaron esporádicamente. Se puede concluir que los portadores independientes de DM presentaron mayor cantidad de *Lactobacillus* sp. en comparación con los individuos normoglucémicos, y el uso de probióticos no alteró la microbiota intestinal, probablemente debido a su uso esporádico.

PALABRAS CLAVE

Bacterias. Diabetes. Glucosa. Microbiota. Probióticos.

1 INTRODUÇÃO

A diabetes mellitus (DM) é um dos distúrbios metabólicos com maior impacto na saúde da população mundial (LOURENÇO; DORES, 2015). No Brasil, de acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2019), existem cerca de 13 milhões de pessoas vivendo com a doença, representando um total de 6,9% da população brasileira. A *International Diabetes Federation* revelou que existem 175 milhões de pessoas que ainda não foram diagnosticadas com diabetes e prevê que em 2035 a estimativa alcance 592 milhões de diabéticos em todo o mundo (LOURENÇO, 2014).

As disfunções metabólicas desencadeadas pela DM podem modificar a composição da microbiota intestinal (GANESAN *et al.*, 2018). O trato gastrointestinal apresenta uma ampla microbiota, onde se identificam quatro filos bacterianos principais: *Firmicutes* (inclui espécies de *Lactobacillus*, *Mycoplasma*, *Clostridium*), *Bacteroides*, *Actinobacteria* (inclui o gênero *Bifidobacterium*) e *Proteobacteria* (inclui o gênero *Escherichia*); os dois primeiros são os filos dominantes (LOURENÇO; DORES, 2015). Tal microbiota tem sido alvo de diversos estudos para identificar diferenças no perfil funcional da população microbiana de indivíduos saudáveis e aqueles com DM (LOURENÇO, 2014).

A patogênese da DM pode ser influenciada por três fatores: genético, imunológico e ambiental. Tem-se buscado esclarecer o papel desempenhado pela microbiota intestinal na intervenção destes fatores (LOURENÇO; DORES, 2015). Ao se modificar a microbiota intestinal de camundongos houve aumento da capacidade de tolerância à glicose e se concluiu que é possível melhorar o metabolismo do hospedeiro (MEMBREZ *et al.*, 2008).

Por meio de técnicas moleculares foi possível relacionar a composição da microbiota intestinal com doenças metabólicas como a DM. A DM tipo 2 está associada a mudanças na microbiota intestinal, principalmente em filo e classe. Verificou-se prevalência dos filos **Bacteroides** e **Proteobacteria** e menor proporção de **Firmicutes** (*Lactobacillus sp.*) em pessoas diabéticas em comparação com as não diabéticas (LARSEN *et al.*, 2010). O contrário foi identificado por Lourenço e Dores (2015), que isolaram maior população de *Lactobacillus sp.* e menor de *Bifidobacterium sp.* em indivíduos com DM2.

Estas alterações na composição da microbiota intestinal de indivíduos com DM caracterizam a disbiose e podem promover a translocação de bactérias patogênicas para o epitélio (CHEN *et al.*, 2013; HALLIEZ; BURET, 2015). Tal infiltração microbiana pode afetar a barreira epitelial e, associada ao desequilíbrio na composição do muco intestinal, contribuir para a ocorrência de doenças inflamatórias intestinais (BELKAID; HAND, 2014; GERBABA *et al.*, 2015).

O presente estudo teve como objetivo, sabendo que a microbiota intestinal apresenta diversos benefícios para o organismo humano, tais como impedir a proliferação de microrganismos patogê-

nicos, reduzir o pH intestinal, produzir vitaminas, entre outros e sua composição depende de fatores do hospedeiro, como o teor de carboidratos, analisar a população de *Lactobacillus* sp. intestinais de portadores de DM comparando aos indivíduos normoglicêmicos.

2 MÉTODO

2.1 PARTICIPANTES DO ESTUDO

O estudo foi conduzido com pacientes de ambos os sexos, maiores de 18 anos, portadores de DM (GD) e normoglicêmicos (GN) selecionados por conveniência. Foram excluídos aqueles que não responderam o questionário, não forneceram amostra de fezes ou não assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Foi aplicado um questionário com variáveis sociodemográficas (sexo e idade), medicamentos ou probióticos utilizados. Para os pacientes com DM havia questões sobre o tipo de DM e o tempo de diagnóstico. Além do questionário foi coletada uma amostra de fezes para pesquisa de *Lactobacillus* sp.

2.2 PESQUISA DE *LACTOBACILLUS*SP.

Foi coletado, utilizando palito de madeira 0,2 g de amostra de fezes, a qual foi dissolvida em 5ml solução salina 0,9% (NaCl) estéril. Foram semeados 100 µL desta solução em ágar Rogosa (Merck, Alemanha), com auxílio de alça de Drigalski, em duplicata. As culturas foram incubadas a 37°C por 72 horas sob condições de anaerobiose. As Unidades Formadoras de Colônias (UFC) foram quantificadas para estimar as UFC/g de cada paciente e em seguida, para confirmação do gênero *Lactobacillus* sp. submetidas à prova da catalase e coloração de Gram.

2.3 ANÁLISE DOS RESULTADOS

Para cada grupo experimental foram obtidos média e desvio padrão do crescimento microbiano em UFC/g. O GD e GN foram comparados por meio do teste T de *Student*, utilizando o *software GraphPad Prism* versão 5.01. O uso de probióticos e o tipo de DM foi associado ao crescimento microbiano por meio do teste de qui-quadrado com a calculadora epidemiológica *OpenEpi* versão 3.01. Foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

2.4 ASPECTOS ÉTICOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Centro Universitário Integrado sob o Certificado de Apresentação e Apreciação Ética (CAAE) nº16665919.8.0000.0092. Os dados foram analisados de forma coletiva, garantindo o anonimato do participante.

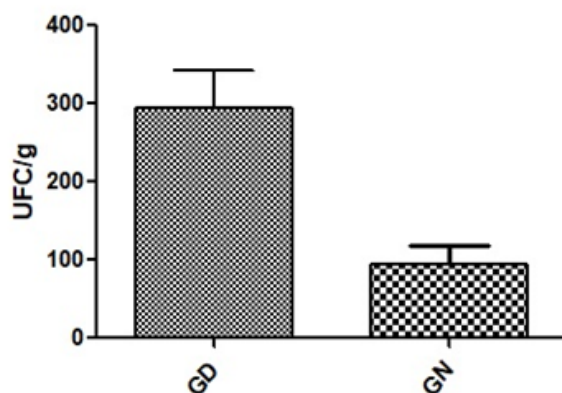
3 RESULTADOS

Cada grupo experimental foi composto de 15 pessoas para garantir a comparação dos resultados. Para esses grupos a quantidade de homens e mulheres foi praticamente homogênea, 53% de homens no GN e 40% no GD. A média de idade era de $29,8 \pm 10,0$ anos no GN contra $64,7 \pm 13,1$ anos no GD.

O grupo GD apresentou mais casos de DM tipo II (73,3%) comparado ao tipo I, e o tempo médio de doença foi de 10,7 anos. Neste grupo também foi analisado o uso de medicamentos para o controle da DM e houve predomínio do uso de metformina, seguido de insulina e glibenclamida.

O grupo GD apresentou quantidade de *Lactobacillus* sp. 3,1 vezes maior ($p < 0,001$) que no GN (FIGURA 1).

Figura 1 – Crescimento microbiano em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *Lactobacillus* sp. por grama de fezes nos grupos Portadores de DM (GD) e Normoglicêmicos (GN)



Fonte: Dados da pesquisa.

O crescimento microbiano foi relacionado ao tempo e tipo de DM, entretanto não se verificou associação significativa para estas variáveis ($p > 0,05$).

Outro fator analisado na pesquisa foi o uso de probióticos pelos participantes e este foi utilizado com mais frequência no GN, entretanto o uso nos grupos se deu de forma esporádica. O uso de probiótico não foi associado ao aumento no crescimento de *Lactobacillus* sp. ($p > 0,05$) para ambos os grupos experimentais.

4 DISCUSSÃO

Dentre os portadores de DM houve predomínio do tipo II, a qual corresponde a cerca de 90% dos casos de DM e sua maior prevalência é na população idosa (FERNANDES *et al.*, 2019). Isso ocorre de-

vido ao processo de envelhecimento, fazendo com que ocorra alterações no metabolismo dos carboidratos, levando a um aumento da glicemia à medida em que o indivíduo envelhece (SISTI *et al.*, 2012). Os medicamentos mais utilizados para o tratamento da DM tipo II são a metformina, glibenclamida e para DM tipo I, insulina (SANTOS *et al.*, 2016).

A microbiota do portador de DM sofre diversas alterações em sua composição, com isso o intestino perde nutrientes e proteínas importantes para o seu funcionamento correto (LOURENÇO, 2014). Essas alterações estão relacionadas com mudanças nos filos e classes de bactérias presentes na microbiota intestinal (LARSEN *et al.*, 2010), que são consideradas consumidoras de butirato, deixando a microbiota suscetível a inflamação (GANESAN *et al.*, 2018). Assim uma maior população de *Lactobacillus* sp. representa uma consequência maléfica da patologia já que estas em excesso podem promover inflamação intestinal.

O aumento na população de *Lactobacillus* sp. no GD corrobora com o estudo de Lourenço e Dore (2015). Este resultado pode ser justificado pelo fato de a DM causar atraso no tempo de trânsito orocecal (MALIK *et al.*, 2018). Outros autores (TSAI *et al.*, 2019; PICCOLO *et al.*, 2018) confirmam a disbiose para tal patologia e ainda, que o crescimento bacteriano no intestino vai aumentando com o passar dos anos (MALIK *et al.*, 2018).

Apesar dos *Lactobacillus* sp. serem apenas uns dos membros da microbiota intestinal, sua população deve estar sempre em equilíbrio, uma vez que alterações nas proporções dessa classe bacteriana estão frequentemente relacionadas com patologias agudas e condições crônicas. Estudos têm identificado inúmeras funções dos *Lactobacillus* sp. em prol da saúde do hospedeiro, com destaque para sua ação na prevenção ou reversão de danos ao intestino, recuperação da homeostasia do sistema imunológico com aumento de células de memória, produção de metabólitos que previnem ou combatem doenças infecciosas e melhoram a função da barreira epitelial (BELKAID; HAND, 2014; HEENEY *et al.*, 2018).

O uso de probióticos não influenciou na população microbiana dos indivíduos da pesquisa, tal resultado é justificado pelo fato de que os probióticos só são eficazes quando o seu uso é contínuo e em doses suficientes. O seu uso esporádico não exerce efeito na população de *Lactobacillus* sp. (SATO *et al.*, 2017).

Existem no mercado diversas classes de probióticos e a função de cada um varia conforme a espécie bacteriana (TSAI *et al.*, 2019). Fazer o uso de cepas de probióticos de *Lactobacillus* sp. pode melhorar a integridade intestinal, porém leites fermentados, contendo vários probióticos juntos, não alteram a composição da microbiota do intestino (MORAES *et al.*, 2014).

Neste estudo foi analisada somente a população de *Lactobacillus* sp., entretanto a suplementação com outros gêneros bacterianos, como *Bifidobacterium* sp. por exemplo, pode ser indicada. A suplementação com probióticos apresenta diversos benefícios à saúde dos portadores DM, o seu uso correto tem a capacidade de melhorar o controle glicêmico e metabólico, reduzir a glicemia em jejum, hemoglobina glicada e até a resistência à insulina (BEZERRA *et al.*, 2016), também apresenta eficácia no alívio das constipações intestinais (SANTOS; VARAVALHO, 2011). Assim, justifica-se a importância do estudo acerca da composição do microbioma do portador de DM.

5 CONCLUSÃO

Os portadores de DM, independentes do tipo, apresentaram maior quantidade de *Lactobacillus* sp. na microbiota intestinal comparados aos indivíduos normoglicêmicos. O uso de probióticos não influenciou no crescimento microbiano de *Lactobacillus* sp. provavelmente devido ao uso esporádico relatados pelos participantes da pesquisa. Incentiva-se com essa pesquisa o estudo da microbiota intestinal dos portadores de DM para que estes façam o uso adequado de probióticos que minimizem os efeitos nocivos provocados pela doença.

REFERÊNCIAS

BELKAID, Y; HAND, T.W. Role of the microbiota in immunity and inflammation. **Cell**, v. 157, p. 121-141, 2014.

BEZERRA, A. *et al.* Efeito da suplementação de probióticos no diabetes mellitus: uma revisão sistemática. **Rev. Hosp. Univ. Pedro Ernesto**, v. 15, n. 2, p. 129-139, 2016.

CHEN, T. L. *et al.* Persistent gut barrier damage and commensal bacterial influx following eradication of *Giardia* infection in mice, **Gut Pathog.**, v. 5, n.1, p. 26-32, 2013.

FERNANDES, S. S. C. *et al.* Avaliação da adesão ao tratamento farmacológico de idosos portadores de Diabetes Mellitus Tipo II acompanhados em uma rede de farmácias de Vitória da Conquista-Bahia. **Id on Line - Rev. Multidiscipl. Psicol.**, v. 13, n. 43, p. 241-263, 2019.

GANESAN, K. *et al.* Causal relationship between diet-induced gut microbiota changes and diabetes: A novel strategy to transplant *Faecalibacterium prausnitzii* in preventing diabetes **Int. J. Mol. Sci.**, v. 19, n. 12, p. 3720, 2018.

GERBABA, T. K. *et al.* *Giardia duodenalis*-induced alterations of commensal bacteria kill *Caenorhabditis elegans*: a new model to study microbial-microbial interactions in the gut. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.**, v. 308, p. G550-G561, 2015.

HALLIEZ, M. C. M.; BURET, A. G. Gastrointestinal parasites and the neural control of gut functions. **Front. Cel. Neurosci.**, v. 9, p. 1-20, 2015.

HEENEY, D. D. *et al.* Intestinal *Lactobacillus* in health and disease, a driver or just along for the ride? **Curr. Opin. Biotech.**, v. 49, p. 140-147, 2018.

LARSEN, N. *et al.* Gut microbiota in human adults with Type 2 Diabetes differs from non-diabetic adults. **PloS One**, v. 5, n. 2, p. e9085, 2010.

LOURENÇO, J. M. T. V. R. **Influência da flora intestinal na etiopatogenia e terapêutica do diabetes.** 2014. 56f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina) – Universidade do Porto, Portugal, 2014.

LOURENÇO, J. M. T. V. R.; DORES, J. M. Influência da microflora intestinal na etiopatogenia e terapêutica da Diabetes Mellitus Tipo 2. **Rev. Port. Diabetes**, v. 10, n. 3, p.109-117, 2015.

MALIK, A. *et al.* Type 1 Diabetes Mellitus: Complex interplay of oxidative stress, cytokines, gastrointestinal motility and small intestinal bacterial overgrowth. **Eur. J. Clin. Invest.**, v. 48, n. 11, p. e13021, 2018.

MEMBREZ, M. *et al.* Gut microbiota modulation with norfloxacin and ampicillin enhances glucose tolerance in mice. *The FASEB Journal*, v. 22, n. 7, p. 2416-2426, 2008.

MORAES, A. *et al.* Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, v. 58, n. 4, p. 317-327, 2014.

PICCOLO, B. D. *et al.* Diabetes-associated alterations in the cecal microbiome and metabolome are independent of diet or environment in the UC Davis Type 2 Diabetes Mellitus Rat model **Am. J. Physiol. – Endoc. M.**, v. 315, n. 5, p. e961-972, 2018.

SANTOS, A. *et al.* Estudo do perfil farmacoterapêutico de pacientes idosos portadores de diabetes tipo II. **Ciê. Saúde On-line**, v. 1, n. 3, p. 24-33, 2016.

SANTOS, T. T.; VARAVALLO, M. A. A importância de probióticos para o controle e/ou reestruturação da microbiota intestinal. **Rev. Cient. ITPAC**, v. 4, n. 1, p. 40-49, 2011.

SATO, J. *et al.* Probiotic reduces bacterial translocation in type 2 diabetes mellitus: A randomised controlled study. **Sci. Rep.**, v. 7, n. 1, p. 12115, 2017.

SISTI, L. R. *et al.* Formulação de dieta enteral artesanal adequada para idosos institucionalizados portadores de Diabetes Mellitus Tipo 2 e hipertensão arterial no município de Londrina. Congresso Multiprofissional em Saúde, 6, 2012. **Anais...**, Londrina, 2012

SBD - Sociedade Brasileira de Diabetes. **O que é diabetes?** 2019. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/publico/diabetes/oque-e-diabetes>. Acesso em: 2 abr. 2019.

TSAI, Y. *et al.* Probiotics, prebiotics and amelioration of diseases. **J. Biomed. Sci.**, v. 26, n. 1, p. 1-8, 2019.

Recebido em: 30 de Outubro de 2019

Avaliado em: 5 de Março de 2020

Aceito em: 5 de Março de 2020



A autenticidade desse artigo pode ser conferida no site <https://periodicos.set.edu.br>



Este artigo é licenciado na modalidade acesso abertosob a Atribuição-Compartilhaigual CC BY-SA

1 Farmacêutica. Centro Universitário Integrado, Campo Mourão-PR, Brasil. E-mail: bruna_costavieira@outlook.com

2 Doutora em Biotecnologia e Fisiopatologia; Farmacêutica; Professora do Centro Universitário Integrado, Campo Mourão-PR. E-mail: mariana.pavanelli@grupointegrado.br

