

O papel dos probióticos na resposta imunológica e na microbiota fecal de crianças com doença celíaca: uma revisão sistemática

The role of probiotics in the immune response and intestinal microbiota of children with celiac disease: a systematic review

Camila Fernanda Jedwab^{a,*} , Bruna Cardoso de Mattos Boccalini Roston^a , Ana Beatriz Ferreira de Souza Toge^a , Isadora Fagundes Echeverria^a , Guilherme Ojea Gomes Tavares^a , Matheus Alves Alvares^a , Vera Esteves Vagnozzi Rullo^a , Marcella Rocha Machado de Oliveira^b 

RESUMO

Objetivo: Avaliar mudanças na resposta imunológica (diminuição de citocinas pró-inflamatórias no sangue) e na microbiota fecal (principalmente *Bacteroidetes* e *Firmicutes*) após a administração de probióticos em crianças com doença celíaca que seguiam uma dieta livre de glúten.

Fontes de dados: Foram utilizadas para esta revisão as bases de dados Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), Springer e Scientific Electronic Library Online (SciELO), com os descritores “celiac disease AND probiotics”. No fim da busca, foram recuperados 168 artigos, dos quais quatro foram incluídos na síntese qualitativa final. Os critérios de inclusão foram ensaios clínicos randomizados e população pediátrica (1–19 anos) e os critérios de exclusão, intervenções que não fossem com probióticos, estudos com pacientes portadores de outras doenças associadas à doença celíaca, ou que não preenchessem critérios para o diagnóstico. Todos os estudos eleitos foram publicados até setembro de 2020, sem restrição de idioma, com pacientes recebendo cepas de *Bifidobacterium breve* ou *B. longum* e em uma dieta livre de glúten.

Síntese dos dados: Os estudos demonstram que a administração de probióticos associada a uma dieta livre de glúten pode aproximar a microbiota fecal desses pacientes às condições típicas de um indivíduo saudável ao restaurar a abundância

ABSTRACT

Objective: To evaluate changes in peripheral immunological response (decrease in blood proinflammatory cytokines) and fecal microbiota (especially *Bacteroidetes* and *Firmicutes*) after administration of probiotics in children with celiac disease on a gluten-free diet.

Data source: The databases MEDLINE, LILACS, Springer and SciELO were used for this review, with the descriptors “celiac disease AND probiotics”. At the end of the search, 168 articles were retrieved, four of which were included in the final qualitative synthesis, having as inclusion criteria randomized clinical trials and pediatric population (1–19 years) and, as exclusion criteria, interventions other than probiotics, studies with patients with other diseases associated with celiac disease, or patients who did not meet the diagnostic criteria. All elected studies were published until September 2020, without language restriction, with patients receiving strains of *Bifidobacterium breve* or *B. longum* and on a gluten-free diet.

Data synthesis: The studies show that the administration of probiotics along with a gluten-free diet, can approximate the fecal microbiota of celiac patients to typical conditions of healthy individuals, by restoring the abundance of some microbial communities that characterize the typical physiological condition. In addition, the administration of probiotics can reduce serum proinflammatory cytokines (mainly TNF-alpha).

*Autor correspondente. E-mail: camilajedwab@gmail.com (C. F. Jedwab).

^aCentro Universitário Lusíada, Santos, SP, Brasil.

^bUniversidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Recebido em 10 de novembro de 2020; aprovado em 02 de março de 2021.

de algumas comunidades microbianas que caracterizam uma condição tipicamente fisiológica. Além disso, a administração de probióticos pode reduzir as citocinas pró-inflamatórias (principalmente TNF-alfa).

Conclusões: Apesar da correlação positiva entre probióticos e microbiota fecal/marcadores sorológicos nos pacientes pediátricos portadores de doença celíaca, ressalta-se a necessidade de estudos multicêntricos futuros que abranjam um maior número de pacientes e maior tempo de acompanhamento.

Palavras-chave: Doença celíaca; Probióticos; Microbioma gastrointestinal; Dieta livre de glúten; *Bifidobacterium breve*; *Bifidobacterium longum*.

Conclusions: Despite the positive correlation between probiotics and fecal microbiota/serological markers in pediatric patients with celiac disease, we emphasize the need for future multicentric studies that should include a larger number of patients and a longer follow up period.

Keywords: Celiac disease; Probiotics; Gastrointestinal microbiome; Diet, gluten free; *Bifidobacterium breve*; *Bifidobacterium longum*.

INTRODUÇÃO

A doença celíaca (DC) é caracterizada como uma condição inflamatória crônica do trato gastrointestinal, que acomete primariamente o intestino delgado, causando atrofia das vilosidades e má absorção de nutrientes.¹ A DC ocorre em indivíduos geneticamente susceptíveis, que, em reposta a gatilhos ambientais, desenvolvem uma resposta imune secundária à ingestão de glúten.² Os pacientes podem apresentar diversos graus de inflamação intestinal, desde linfocitose intraepitelial até grave infiltração subepitelial, resultando em atrofia vilositária e hiperplasia de criptas. A apresentação clínica e laboratorial da doença pode ser variável, desde assintomática³ ao clássico quadro disabsortivo,⁴ este mais comumente encontrado em crianças do que adultos.⁵ Seu diagnóstico é baseado no reconhecimento dos sintomas, *screening* sorológico e biópsias do intestino delgado.⁴

Nos últimos anos, a DC tem sido reconhecida como um dos distúrbios crônicos mais comuns em crianças, com prevalência estimada em 1%.⁶ História familiar positiva, problemas genéticos e outras condições autoimunes são considerados fatores de risco de desenvolvimento da doença.³

Atualmente, o estudo sobre a microbiota intestinal e sua potencial relação com doenças inflamatórias e autoimunes vem sendo amplamente discutido na literatura. Os três filos de bactérias que compõem a maior parte dos componentes desse microbioma são *Firmicutes*, *Bacteroides* e *Actinobactéria*.⁷ No geral, a maioria das biópsias de duodeno e de fezes de pacientes com DC comparados com indivíduos saudáveis revela certa disbiose, com diminuição de *Lactobacillus* spp., *Enterococci*, *Firmicutes* e *Bifidobacterium* e aumento do número de bactérias Gram negativas, *Bacteroides* e *Staphylococcus*.⁸ Esse desequilíbrio tem-se mostrado particularmente importante na patogênese da DC, levantando o interesse nos probióticos como alvos terapêuticos.

Os probióticos são microrganismos vivos que, quando consumidos em quantidades adequadas, podem ter efeitos

preservativos na barreira epitelial intestinal e efeitos imunomodulatórios (inibição de citocinas pró-inflamatórias como IFN-gama, TNF-alfa, IL-2).⁷ Além disso, podem proporcionar apoptose de células epiteliais e adesão de bactérias patogênicas em nível intestinal.⁹

Sabe-se que o único tratamento disponível atualmente para a DC é uma dieta estritamente sem glúten, que promove a resolução quase completa dos sintomas e a cicatrização da mucosa; porém, diferentes estudos demonstraram que pacientes com DC têm problemas em aderir inteiramente a esse tipo de dieta, o que leva a inúmeras complicações da doença.¹⁰⁻¹² Assim, várias alternativas terapêuticas surgiram, mas até o momento nenhum medicamento está amplamente disponível no mercado. A associação de uma dieta livre de glúten com probióticos tem-se demonstrado efetiva em trabalhos *in vitro* e em animais.¹³

A literatura atual ainda é controversa em relação ao tema. Portanto, o presente estudo visa proporcionar uma revisão atualizada quanto ao uso dos probióticos, principalmente *Bifidobacterium breve* e *B. longum*, nos parâmetros imunológicos e na microbiota intestinal de pacientes pediátricos portadores de DC.

MÉTODO

Esta revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados (ECR) avaliou os efeitos dos probióticos na microbiota fecal e em marcadores sorológicos de pacientes pediátricos com diagnóstico de DC. Os artigos foram selecionados de acordo com as recomendações do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis* (The PRISMA Statement), responsável pela coordenação do processo de feitura de metanálises e revisões sistemáticas.¹⁴

Para a seleção dos trabalhos, uma busca sistemática da literatura foi realizada nas bases de dados Medical Literature Analysis and

Retrieval System Online (MEDLINE) (via PubMed), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) (via Biblioteca Virtual em Saúde), Springer e Scientific Electronic Library Online (SciELO). Utilizaram-se os seguintes termos para a busca nas bases: MEDLINE — (probiotic[MeSH Terms]) OR (probiotics[MeSH Terms]) AND (celiac disease[MeSH Terms]); LILACS — tw:(celiac disease) AND (tw:(probiotic)); Springer — “celiac disease” AND (probiotics OR probiotic); SciELO — (probiótico) AND (doença celíaca). As pesquisas foram feitas entre agosto e setembro de 2020, sem restrição de idioma.

Os critérios de inclusão para esta revisão englobaram somente ECR e estudos realizados com a população pediátrica (de 0 a 19 anos incompletos). Já os critérios de exclusão foram estudos observacionais, estudos em população não pediátrica, revisões

de literatura, estudos duplicados, intervenções que não fossem com probióticos, estudos com pacientes portadores de outras doenças associadas à DC, pacientes com sensibilidade ao glúten não celíaca e pacientes com predisposição genética à DC, mas sem diagnóstico confirmado (de acordo com os critérios da European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition — ESPGHAN).

Após a revisão sistemática da literatura pelas bases de dados mencionadas acima, foram selecionados os artigos que preenchiam os critérios de inclusão. Chegou-se ao total de 168 artigos: 48 via MEDLINE, 94 via LILACS, 25 via Springer e um via SciELO. Após a triagem metodológica, quatro estudos foram elegíveis para esta revisão sistemática. A Figura 1 descreve as etapas de seleção dos artigos.

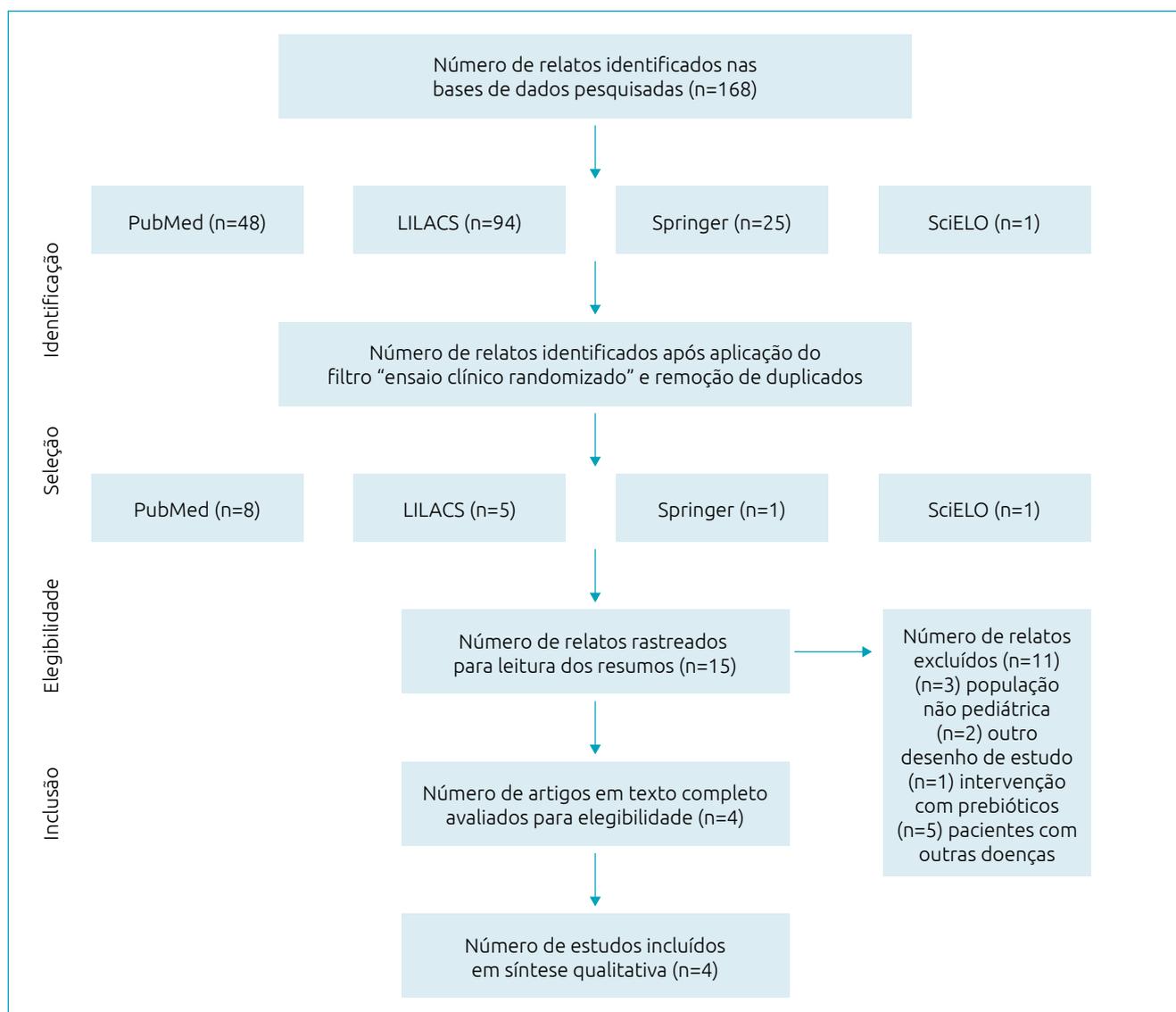


Figura 1 Fluxograma dos estudos incluídos na análise.

RESULTADOS

Os quatro trabalhos selecionados para esta revisão sistemática são ECR com um grupo controle, que recebeu apenas placebo, e um grupo de intervenção, que recebeu probióticos. O objeto de estudo foi a população pediátrica (mínimo de 1 e máximo de 19 anos) com diagnóstico de DC confirmado pelos critérios da ESPGHAN,¹⁵ totalizando 165 participantes. As características de cada estudo estão detalhadas na Tabela 1.

Os ensaios clínicos foram avaliados individualmente quanto à qualidade metodológica (risco de viés) seguindo a ferramenta da Cochrane de avaliação de risco de viés (*Cochrane Risk of Bias Tool*)¹⁶ e estão mais detalhados na Tabela 2.

Quagliariello et al.¹⁷ conduziram pesquisa com 40 pacientes pediátricos com 1 a 19 anos de idade que seguiam dieta livre de glúten e eram positivos para marcadores sorológicos de DC e biópsia de intestino delgado (de acordo com os critérios ESPGHAN¹⁴ para diagnóstico de DC). Foram excluídos pacientes com qualquer outra doença aguda ou crônica, em uso de medicações permanentes e que haviam ingerido antibióticos em até um mês

antes do início do estudo. Os participantes foram randomizados para receber ou cepas de *B. breve* B632 (DSM 24706) e BR03 (DSM 16604) em uma razão de 1:1 (n=20) ou placebo (n=20) por três meses. Os pesquisadores analisaram o DNA microbiano (por meio de reação em cadeia da polimerase — PCR *real-time*) extraído das fezes dos pacientes com DC antes e depois do tratamento com probiótico ou placebo. Além disso, analisaram as fezes de um grupo controle com 16 pacientes saudáveis (sem comorbidades). O sequenciamento do DNA revelou a presença significativa de seis filos de bactérias: Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Verrucomicrobia e Euryarchaeota. Mostrou-se o aumento de Actinobacteria e o restabelecimento da proporção fisiológica de Firmicutes/Bacteroidetes no grupo intervenção após três meses de tratamento, levando a crer que a administração de cepas de *B. breve* associada a dieta livre de glúten pode aproximar a microbiota fecal de pacientes celíacos das condições típicas de um indivíduo saudável.

No estudo realizado por Klemenak et al.,¹⁸ foram selecionadas 49 crianças com 1 a 19 anos e diagnóstico de DC em

Tabela 1 Características dos ensaios clínicos randomizados selecionados.

Autor/ano/ país	Idade da coorte (anos)	Probiótico	Grupo intervenção (n)	Grupo placebo (n)	Tempo de seguimento
Quagliariello et al., 2016, Eslovênia ¹⁷	1 a 19	<i>B. breve</i> B632 (DSM 24706) e BR03 (DSM 16604)	20	20	3 meses
Klemenak et al., 2015, Eslovênia ¹⁸	1 a 19	<i>B. breve</i> B632 e BR03	24	25	3 meses
Olivares et al., 2014, Espanha ¹⁹	2 a 17	<i>Bifidobacterium longum</i> CECT 7347	18	18	3 meses
Primec et al., 2018, Eslovênia ²⁰	1 a 19	<i>B. breve</i> B632 e BR03	20	20	3 meses

Tabela 2 Ferramenta da Colaboração Cochrane para avaliação do risco de viés.¹⁶

Estudos	Quagliariello et al. ¹⁷	Klemenak et al. ¹⁸	Olivares et al. ¹⁹	Primec et al. ²⁰
Geração de sequência aleatória	B	A	A	B
Ocultação de alocação	A	A	A	B
Cegamento de participantes e profissionais	A	A	A	A
Cegamento de avaliadores de desfecho	A	B	A	A
Desfechos incompletos	B	A	A	B
Relato de desfecho seletivo	B	A	B	A
Outras fontes de viés	B	B	B	B

A: baixo risco de viés; B: risco de viés incerto; C: alto risco de viés.

uma dieta livre de glúten. Os critérios de exclusão e inclusão utilizados foram os mesmos adotados no estudo conduzido por Quagliariello et al. Essa população foi randomizada para receber, se alocadas para o grupo intervenção, *B. breve* cepas B623 e BR03 diariamente durante três meses (n=24) e, se alocadas para o grupo controle, placebo durante o mesmo período (n=25). Além disso, 18 crianças saudáveis foram analisadas como grupo controle. O desfecho primário foi a avaliação da mudança nos níveis séricos das citocinas TNF- α e IL-10 após a administração dos probióticos supracitados, a fim de diminuir o ambiente pró-inflamatório intestinal dos pacientes celíacos e, portanto, a incidência das complicações dessa doença. O estudo concluiu que os níveis de TNF-alfa diminuíram significativamente com a administração de probióticos *B. breve* após três meses de uso (p=0,02). Porém, três meses após o término da intervenção (*follow-up*), os níveis de TNF-alfa voltaram a subir. Os níveis de IL-10 estavam abaixo do nível de detecção (5pg/mL) e, portanto, não foram quantificados.

Olivares et al.¹⁹ realizaram um estudo com pacientes na faixa etária pediátrica (2 a 17 anos), no qual foram incluídas 36 crianças com DC recém-diagnosticada de acordo com os critérios ESPGHAN. Os critérios de exclusão foram pacientes envolvidos simultaneamente em outros estudos clínicos, tratamento com antibióticos 30 dias antes do início do estudo e/ou alergias alimentares e outras patologias. As crianças foram randomizadas em grupo intervenção e controle. No primeiro, receberam *Bifidobacterium longum* CECT 7347 (n=18) e, no segundo, placebo (n=18) durante três meses, além de dieta livre de glúten. O desfecho primário desse estudo foi avaliar se a ingestão oral de *B. longum* CECT 7347 melhoraria a eficácia da dieta livre de glúten. O desfecho secundário incluiu a mudança nos parâmetros antropométricos (peso e altura) e imunológicos (citocinas e fenotipagem linfocítica) dos pacientes, além da avaliação da composição da microbiota intestinal após três meses de administração dessa intervenção pela análise do IgA secretório (sIgA) e do DNA de diferentes bactérias nas fezes. Os autores concluíram que a administração de tal probiótico associada a uma dieta livre de glúten leva a mudanças da microbiota intestinal, principalmente à redução dos níveis de bactérias com efeitos potencialmente pró-inflamatórios, como a *B. fragilis*, e à redução dos níveis de sIgA. Ademais, leva à redução de linfócitos T CD3+ periféricos e TNF-alfa, que pode contribuir para a recuperação da homeostase imune de pacientes pediátricos portadores de DC.

Já o estudo feito por Primec et al.²⁰ avaliou o efeito de probióticos em 40 pacientes (de 1 a 19 anos) com diagnóstico prévio de DC de acordo com os critérios ESPGHAN, em dieta livre de glúten, entre os quais os do grupo intervenção (n=20) receberam cepas de *Bifidobacterium breve* B632 e BR03 por

três meses, enquanto os demais receberam placebo pelo mesmo período. Dezesesseis crianças saudáveis em uso de dieta com glúten foram analisadas como grupo controle. Excluíram-se do grupo controle pacientes com qualquer outra doença aguda ou crônica, em uso de medicações permanentes e que haviam ingerido antibióticos até um mês antes do início do estudo. O desfecho primário foi a avaliação da influência de tais probióticos na microbiota fecal pela extração do DNA bacteriano, além de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e TNF-alfa sérico. O estudo concluiu que *Verrucomicrobia*, *Parcubacteria* e alguns outros filos ainda desconhecidos de *Bacteria* e *Archaea* podem estar envolvidos na maior produção de TNF-alfa em pacientes com DC. Ademais, *Proteobacteria* apontaram possível relação com o aumento de AGCC fecais nessa doença.

Em relação aos níveis de TNF-alfa, tanto Klemenak et al. quanto Olivares et al. demonstraram queda nos níveis dessa citocina após três meses de administração do probiótico (p=0,020 e p=0,067, respectivamente). Olivares et al. também demonstraram diminuição nos linfócitos T CD3+(p 0,004), sugerindo que *Bifidobacterium* poderia contribuir para a redução do *status* inflamatório do paciente quando associado a uma dieta livre de glúten.

Primec et al. demonstraram, em crianças saudáveis, uma forte correlação negativa entre TNF-alfa e Firmicutes (r=0,660, p=0,010). Esse estudo demonstrou, ainda, associação negativa entre os níveis de TNF com Firmicutes (r=0,468, p=0,038) após administração de *B. breve* BR03 e *B. breve* B632 durante três meses, o que está de acordo com Klemenak et al. e Quagliariello et al., revelando diminuição dessa citocina e restabelecimento da razão Firmicutes/Bacteroidetes, respectivamente. No grupo placebo, TNF-alfa teve correlação negativa (r=0,507, p=0,032) com Bacteroidetes após o mesmo período de seguimento. Isso sugere que a administração desse probiótico pode aproximar a microbiota intestinal de um paciente celíaco à de um saudável.

No estudo de Quagliariello et al. se constatou, na análise metagenômica, que os níveis de Firmicutes nas fezes foram significativamente menores no grupo placebo (40–50%) comparado com o grupo probiótico (50–60%) após três meses de intervenção (p<0,01). Já os níveis de Bacteroidetes não sofreram mudanças estatisticamente significantes em decorrência do tratamento com probióticos (p>0,01). Isso difere da análise feita por Olivares et al., na qual os níveis do grupo *B. fragilis* aumentaram significativamente no grupo placebo e diminuíram no grupo probiótico (p=0,020).

No que se refere aos níveis de IgA secretório nas fezes, Olivares et al. demonstraram redução significativa desse parâmetro no grupo *B. longum* CECT 7347 em relação ao placebo (p=0,011) em três meses de seguimento.

Primec et al., por sua vez, constataram correlação positiva em T0 nos pacientes celíacos entre Proteobacteria com ácido acético e ácido propiônico ($r=0,452$, $p=0,004$ e $r=0,331$, $p=0,045$, respectivamente), resultando em correlação positiva entre essa bactéria e contagem total de AGCC ($r=0,380$, $p=0,017$). E, no fim da intervenção, os pacientes expostos ao probiótico apresentaram associação negativa entre ácido acético ($r=0,502$, $p=0,024$; $r=0,498$, $p=0,026$ e $r=0,524$, $p=0,018$) e Verrucomicrobia, grupos não classificados de Bactéria e Euryarchaeota, respectivamente. Isso leva a crer que a modulação da produção de AGCC pode ter papel importante na restauração da microbiota intestinal.

As Tabelas 3 e 4 demonstram os resultados estatísticos encontrados nos estudos.

DISCUSSÃO

Os probióticos têm sido recentemente utilizados em vários ensaios clínicos como tratamento adicional aliado a uma dieta livre de glúten em pacientes com DC, principalmente *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. Isso se deve ao fato de que esses pacientes têm uma alteração na composição da microbiota intestinal, marcada por redução de bactérias benéficas, como Bifidobacteria e Lactobacillus; e aumento dos níveis de microrganismos potencialmente patogênicos, como Proteobacteria, Bacteroidetes e Actinobacteria.²¹⁻²³ Pacientes com DC apresentam, ainda, uma desproporção de Firmicutes/Bacteroidetes, e essa razão não é completamente restabelecida com uma dieta livre de glúten.²⁴

Diante desse cenário, a literatura atual indica uma forte tendência para introduzir cepas de *Bifidobacterium breve* e *longum* na dieta. Tais probióticos atuam como potentes moduladores da resposta imune periférica, reduzindo citocinas pró-inflamatórias (TNF-alfa), induzindo a produção de citocinas anti-inflamatórias (IL-10) pela resposta imune Th1 e prevenindo a inflamação da mucosa intestinal.^{25,26} Além disso, podem atuar na restauração da desproporção entre Firmicutes/Bacteroidetes nos indivíduos com DC, como observado por Quagliariello et al.

Em relação aos estudos aqui analisados, pode-se observar homogeneidade quanto ao tipo de intervenção (*B. breve* B632 e BR03 na razão de 1:1), dose utilizada (109UFC/g — unidades formadoras de colônia), tempo de seguimento (três meses), idade da coorte (de 1 a 19 anos), presença de grupo controle com crianças saudáveis e local de condução do estudo (Eslovênia) nos trabalhos de Klemenak et al., Primec et al. e Quagliariello et al. Somente Olivares difere pelo uso de *B. longum* CECT 7347 como intervenção 10⁹ UFC/g, pela idade de 2 a 17 anos, pela ausência de grupo controle e por ter sido conduzido na Espanha.

No que se refere às limitações dos estudos, o número reduzido de artigos analisados nesta revisão, que implica uma coorte reduzida em cada um, é um fator a ser considerado. O fato de que os trabalhos não foram conduzidos em múltiplos centros e somente na Europa também limita a aplicabilidade da terapêutica com probióticos. Outro fator limitante é o tempo e taxa de adesão à dieta livre de glúten.

Tabela 3 Desfecho primário: avaliação dos parâmetros imunológicos.

Estudo	Parâmetro	PR T0	PR T1	PL T0	PL T1	p-valor †	Grupo controle
Klemenak et al. ^{18*}	TNF- alfa (pg/ml)	14,8±6,4	12±3,6	10,6±3,6	NS	0,020	13,2±4
Olivares et al. ^{19**}	TNF-alfa (pg/ml)	1803,3±188	1442,9±153,2	1669,6±338,5	1515,2±254,3	0,067	-
	Linfócitos T (%)	70±2,2	63,4±2	67±2,8	70±2,2	0,004	-
Primec et al. ²⁰	Correlação TNF-a com microbiota intestinal (negativa ou positiva)	NS	Firmicutes, negativa ($r=0,468$, $p=0,038$)	Verrucomicrobia, positiva ($r=0,780$, $p<0,001$); Parcubacteria, negativa ($r=0,590$, $p=0,010$)	Verrucomicrobia, positiva ($r=0,495$, $p=0,037$); Parcubacteria: NS; Bacteroidetes, negativa ($r=0,507$, $p=0,032$)	- ††	Firmicutes, negativa ($r=0,660$, $p=0,010$); Euryarchaeota, negativa ($r=0,654$, $p=0,011$).

*Klemenak utilizou medianas e intervalos interquartis; **Olivares utilizou média e desvio padrão; PR probiótico; PL placebo; NS não significativo; T0 tempo zero; T1 após três meses; r coeficiente de correlação de Spearman (que pode ser positivo ou negativo); † p-valor entre os grupos no fim da intervenção; †† Análise entre os grupos não foi realizada.

Tabela 4 Desfecho secundário: alteração na microbiota fecal.

Estudo	Parâmetro	PR T0	PR T1	PL T0	PL T1	p-valor †	Grupo controle
Primec et al. ²⁰	Correlação AGCC com microbiota fecal	NS	Ácido acético correlação negativa com Verrucomicrobia (r=0,502, p=0,024), grupos não classificados de Bactéria (r=0,498, p=0,026), Euryarchaeota (r=0,524, p=0,018) e Synergistetes (r=0,587, p=0,006)	Proteobacteria correlação positiva com AGCC totais (r=0,380, p=0,017); Euryarchaeota correlação positiva com ácido acético (r=0,351, p=0,029)	Proteobacteria correlação positiva com ácido acético, propiônico e AGCC totais (r=0,574, p=0,010 e r=0,505, p=0,027); Ácido acético correlação negativa com grupos não classificados de bactérias (r=0,521, p=0,022); Ácido propiônico correlação negativa com Synergistetes (r=0,471, p=0,042); Ácido butírico correlação positiva com Proteobacteria (r= 0,498, p=0,030)	- ††	NS
Olivares et al. ^{19*}	IgA secretório (mg/ml)	77±4,9	60,8±7,2	67,1±5,7	84,1±6	0,011	-
	microbiota fecal (B. fragilis) (Log CFU/g de fezes)	9,4±0,2	9,3±0,2	9,1±0,2	9,6±0,2	0,020	-
Quagliariello et al. ¹⁷	microbiota fecal (Firmicutes %)	40–50%	50-60%	40–50%	40–50%	<0,01	60–70%
	microbiota fecal (Bacteroidetes %)	30–40%	30–40%	20–30%	30–40%	NS	10–20%

*Olivares utilizou média e desvio padrão; PR probiótico; PL placebo; NS não significativo; T0 tempo zero; T1 após três meses; r coeficiente de correlação de Spearman; † p-valor entre os grupos no fim da intervenção; †† Análise entre os grupos não foi realizada; AGCC ácidos graxos de cadeia curta.

No estudo de Quagliariello et al., a coorte que recebeu probiótico estava em dieta livre de glúten por 5,4±3,4 anos, com aderência de 90%, enquanto o grupo placebo estava nessa dieta por 7,2±5 anos e teve aderência de 80%. Já Klemenak et al. obtiveram no grupo probiótico crianças que seguiam essa dieta havia 5,6±3,7 anos, com 80% de aderência, e, no grupo placebo, 7,1±5,5 com 91% de aderência. Primec et al. não detalharam tal informação, somente citaram o seguimento de dieta livre de glúten entre todos os participantes por 0,5±15 anos. Por fim, Olivares et al. analisaram crianças recém-diagnosticadas com DC e, portanto, que iniciaram essa dieta no início da intervenção. Tais discrepâncias entre os estudos podem implicar resultados enviesados, uma vez que é sabido que o seguimento rigoroso da dieta livre de glúten é essencial para o tratamento da doença.²⁴

Além das pesquisas avaliadas nesta revisão, outros autores já relataram, tanto em ensaios clínicos como em estudos observacionais, benefícios na administração de outros probióticos. Hakansson et al. estudaram crianças com susceptibilidade genética para DC e sem dieta livre de glúten que receberam *L. plantarum* HEAL9 e *L. paracasei* 8700:2 ou placebo por seis meses. No resultado observado, interessantemente, a diferença na maioria dos subtipos linfocitários encontrados no grupo placebo foi similar àquela encontrada em pacientes com DC ativa, indicando uma progressão da doença que não foi observada no grupo probiótico.²⁷

Um estudo de coorte observacional feito no Brasil analisou prospectivamente crianças com DC e crianças hígdas que ingeriram diariamente iogurte com uma mistura de probióticos por

30 dias e demonstrou aumento significativo de Bifidobacteria nas fezes dos pacientes celíacos, mas não nos participantes saudáveis, após a intervenção.²⁸ Isso vai contra os achados de Olivares et al., em cuja pesquisa o grupo intervenção não apresentou aumento estatisticamente significativo ($p=0,875$) da contagem de *Bifidobacterium* spp. nas fezes, tampouco o grupo placebo ($p=0,151$).

Atualmente, o único tratamento existente para a DC é uma dieta estritamente livre de glúten por toda a vida, de acordo com as diretrizes mais recentes da World Gastroenterology Organization (WGO), de 2016.²⁹ Apesar de as novas opções de terapêutica com probióticos terem atingido a fase dos ensaios clínicos, mostrando-se seguras, nenhuma delas está amplamente disponível para uso clínico. Além disso, a literatura atual ainda não contempla estudos grandes feitos na população pediátrica com DC. Assim, mais investigações são necessárias para confirmar o real benefício desses probióticos como

terapia complementar associada a uma dieta livre de glúten para crianças portadoras de DC.

Financiamento

O estudo não recebeu financiamento.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Contribuição dos autores

Desenho do estudo: Jedwab CF, Roston BC, Toge AB, Echeverria IF, Tavares GO. *Coleta de dados:* Jedwab CF, Roston BC, Toge AB, Echeverria IF, Tavares GO. *Análise dos dados:* Jedwab CF, Roston BC, Toge AB, Echeverria IF, Tavares GO. *Redação do manuscrito:* Jedwab CF, Alvares MA, Oliveira MR. *Revisão do manuscrito:* Jedwab CF, Alvares MA, Oliveira MR. *Supervisão do estudo:* Rullo VE, Alvares MA.

REFERÊNCIAS

- Gasbarrini GB, Mangiola F, Gerardi V, Ianiro G, Corazza GR, Gasbarrini A. Coeliac disease: an old or a new disease? History of a pathology. *Intern Emerg Med*. 2014;9:249-56. <https://doi.org/10.1007/s11739-013-1044-5>
- Brown JR, Singh P. Coeliac disease. *Paediatr Int Child Health*. 2019;39:23-31. <https://doi.org/10.1080/20469047.2018.1504431>
- Schuppan D, Junker Y, Barisani D. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. *Gastroenterology*. 2009;137:1912-33. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.09.008>
- Paul SP, McVeigh L, Gil-Zaragozano E, Basude D. Diagnosis and nursing management of coeliac disease in children. *Nurs Child Young People*. 2016;28:18-24. <https://doi.org/10.7748/ncyp.28.1.18.s28>
- Vivas S, De Morales JM, Fernandez M, Hernando M, Herrero B, Casqueiro J, et al. Age-related clinical, serological, and histopathological features of celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2008;103:2360-5. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2008.01977.x>
- Kurppa K, Ashorn M, Iltanen S, Koskinen LL, Saavalainen P, Koskinen O, et al. Celiac disease without villous atrophy in children: a prospective study. *J Pediatr*. 2010;157:373-80. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.02.070>
- Chibbar R, Dieleman LA. The gut microbiota in celiac disease and probiotics. *Nutrients*. 2019;11:2375. <https://doi.org/10.3390/nu11102375>
- Losurdo G, Principi M, Iannone A, Ierardi E, Di Leo A. The interaction between celiac disease and intestinal microbiota. *J Clin Gastroenterol*. 2016;50:S145-7. <https://doi.org/10.1097/mcg.0000000000000682>
- Marchand V. Using probiotics in the paediatric population. *Paediatr Child Health*. 2012;17:575. <https://doi.org/10.1093/pch/17.10.575>
- Gujral N, Freeman HJ, Thomson AB. Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World J Gastroenterol*. 2012;18:6036-59. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i42.6036>
- Tursi A, Elisei W, Giorgetti GM, Brandimarte G, Aiello F. Complications in celiac disease under gluten-free diet. *Dig Dis Sci*. 2009;54:2175-82. <https://doi.org/10.1007/s10620-008-0595-1>
- Tratado de Pediatria: Sociedade Brasileira de Pediatria. 4. ed. Barueri, SP: Manole; 2017.
- Laparra JM, Sanz Y. Bifidobacteria inhibit the inflammatory response induced by gliadins in intestinal epithelial cells via modifications of toxic peptide generation during digestion. *J Cell Biochem*. 2010;109:801-7. <https://doi.org/10.1002/jcb.22459>
- Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Ann Intern Med*. 2009;151:264-9. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00135>
- Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54:136-60. <https://doi.org/10.1097/mpg.0b013e31821a23d0>
- Higgins JP, Thomas J, Chandler J, Cumpston M, Li T, Page MJ, et al, editors. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*. New Jersey: John Wiley & Sons; 2019. <https://doi.org/10.1002/9781119536604>

17. Quagliariello A, Aloisio I, Cionci N, Luiselli D, D'Auria G, Martinez-Priego L, et al. Effect of *Bifidobacterium breve* on the intestinal microbiota of coeliac children on a gluten free diet: a pilot study. *Nutrients*. 2016;8:660. <https://doi.org/10.3390/nu8100660>
18. Klemenak M, Dolinšek J, Langerholc T, Di Gioia D, Mičetić-Turk D. Administration of *Bifidobacterium breve* decreases the production of TNF- α in children with celiac disease. *Dig Dis Sci*. 2015;60:3386-92. <https://doi.org/10.1007/s10620-015-3769-7>
19. Olivares M, Castillejo G, Varea V, Sanz Y. Double-blind, randomised, placebo-controlled intervention trial to evaluate the effects of *Bifidobacterium longum* CECT 7347 in children with newly diagnosed coeliac disease. *Br J Nutr*. 2014;112:30-40. <https://doi.org/10.1017/s0007114514000609>
20. Primec M, Klemenak M, Di Gioia D, Aloisio I, Cionci NB, Quagliariello A, et al. Clinical intervention using *Bifidobacterium* strains in celiac disease children reveals novel microbial modulators of TNF- α and short-chain fatty acids. *Clin Nutr*. 2019;38:1373-81. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.06.931>
21. Cheng J, Kalliomäki M, Heilig HG, Palva A, Lähteenoja H, Vos WM, et al. Duodenal microbiota composition and mucosal homeostasis in pediatric celiac disease. *BMC Gastroenterology*. 2013;13:113. <https://doi.org/10.1186/1471-230x-13-113>
22. Verdu EF, Galipeau HJ, Jabri B. Novel players in coeliac disease pathogenesis: role of the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;12:497-506. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.90>
23. Nadal I, Donant E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease. *Journal of medical microbiology*. 2007;56:1669-74. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47410-0>
24. Sanz Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult humans. *Gut Microbes*. 2010;1:135-7. <https://doi.org/10.4161/gmic.1.3.11868>
25. Zheng B, Bergenhenegouwen J, Overbeek S, Kant HJ, Garssen J, Folkerts G, et al. *Bifidobacterium breve* attenuates murine dextran sodium sulfate-induced colitis and increases regulatory T cell responses. *PLoS One*. 2014;9:e95441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095441>
26. Francavilla R, Angelis M, Rizzello CG, Cavallo N, Dal Bello F, Gobetti M. Selected probiotic lactobacilli have the capacity to hydrolyze gluten peptides during simulated gastrointestinal digestion. *Appl Environ Microbiol*. 2017;83:e00376-17. <https://doi.org/10.1128/aem.00376-17>
27. Håkansson Å, Aronsson C, Brundin C, Oscarsson E, Molin G, Agardh D. Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paracasei* on the peripheral immune response in children with celiac disease autoimmunity: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Nutrients*. 2019;11:1925. <https://doi.org/10.3390/nu11081925>
28. Martinello F, Roman CF, Souza PA. Effects of probiotic intake on intestinal bifidobacteria of celiac patients. *Arq Gastroenterol*. 2017;54:85-90. <https://doi.org/10.1590/s0004-2803.201700000-07>
29. World Gastroenterology Organization [homepage on the Internet] WGO Practice Guideline - Celiac Disease, 2016 [cited 2020 Aug 20]. Available from: <https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/ceeliac-disease>.