

Gabrielle de Oliveira e Souza

**A microbiota intestinal no
metabolismo do ácido úrico e
potenciais probióticos: Breve
revisão bibliográfica e análise
do crescimento bacteriano na
presença de ácido úrico 0,1%**

Rio de Janeiro
2023

A MICROBIOTA INTESTINAL NO METABOLISMO DO ÁCIDO ÚRICO E
POTENCIAIS PROBIÓTICOS: BREVE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E ANÁLISE
DO CRESCIMENTO BACTERIANO NA PRESENÇA DE ÁCIDO ÚRICO 0,1%

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de
Janeiro como requisito parcial para a
obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadoras: Prof^ª Dr^ª Débora Leandro
Rama Gomes e M. Sc. Juliana de Sá
Almeida

Rio de Janeiro
2023

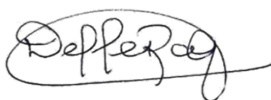
GABRIELLE DE OLIVEIRA E SOUZA

**A MICROBIOTA INTESTINAL NO METABOLISMO DO ÁCIDO ÚRICO E
POTENCIAIS PROBIÓTICOS: BREVE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E ANÁLISE
DO CRESCIMENTO BACTERIANO NA PRESENÇA DE ÁCIDO ÚRICO 0,1%**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Instituto Federal do Rio de Janeiro, como requisito
parcial para a obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.

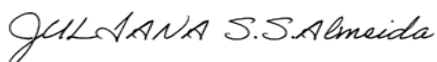
Aprovado em: 18/12/2023.

Banca Examinadora



Documento assinado digitalmente
gov.br DEBORA LEANDRO RAMA GOMES
Data: 19/12/2023 19:59:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profª Drª Débora Leandro Rama Gomes
(Orientadora Interna – IFRJ / *Campus* Realengo)



Documento assinado digitalmente
gov.br JULIANA SOARES DE SA ALMEIDA
Data: 19/12/2023 10:07:22-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

M. Sc. Juliana Soares Almeida
(Orientadora Externa - UFRJ)



Prof. Dr. Itallo Collopy Junior
(Membro Interno - IFRJ / *Campus* Realengo)



Documento assinado digitalmente
gov.br SCARLATHE BEZERRA DA COSTA
Data: 18/12/2023 17:44:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Drª Scarlathe Bezerra da Costa
(Membro Externo - UFRJ)

Rio de Janeiro
2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus que me permitiu chegar até aqui, pois sou d'Ele, tudo vem d'Ele e é para Ele. Aos meus pais, Marilene e Gerci, que me permitiram chegar até aqui, pois sem a sua ajuda, amor e dedicação não seria quem sou hoje, pois sei que antes de pensar neles mesmos fizeram de tudo para que os meus sonhos se realizassem.

À minha tia Mariana, minha inspiração de superação e dedicação, que sempre esteve comigo desde mais nova, cuidando de mim, fazendo o possível e o impossível para me fazer feliz. À minha tia Elaine, mulher de muita garra e determinação, exemplo vivo da bondade e misericórdia de Deus. À minha avó Itaciara, serva de Deus, fiel à sua família e sua casa, seu amor pela minha vida, à mesmo que, muitas vezes de longe, me fez compreender que quem ama cuida, nos mínimos detalhes. Ao meu avô Roberto, que sempre fez de tudo para que sua família estivesse unida, sempre proporcionando amor e comunhão, mostrando que para amar não preciso muito.

Às minhas mais que amigas irmãs que o Colégio Pedro II Campus Humaitá II me trouxe, Andressa, Ana Beatriz, Carolina, Lívia, Lyandra e Letícia. Tenho certeza que Deus colocou vocês na minha vida para me mostrar que as individualidades existem, mas quando se está disposto a amar não importa a situação, o tempo ou mesmo a circunstância, vocês estarão ali. À Andressa, agradeço por me mostrar que as adversidades não podem ser maiores do que a nossa vontade e força em tornar nossos sonhos reais. À Ana Beatriz, agradeço por me mostrar que o verdadeiro segredo da vida é ser quem nós somos de verdade, pois só assim seremos livres pra viver o nosso propósito aqui na terra. À Carolina, agradeço por me mostrar que a amizade vai muito além de momentos e que juntas somos fortes e chegamos mais longe. À Lyandra, agradeço por me fazer entender que nossas fragilidades foram feitas para nos fortalecer e que é preciso superar meus medos, pois pequenos passos nos levam à grandes conquistas. À Lívia, por me amar da maneira mais pura e sincera, por me mostrar que é possível demonstrar o amor de infinitas formas. À Letícia, agradeço por seu companheirismo, parceria e união em todos os momentos da minha vida.

Às amigadas que o IF me proporcionou: Jessyca, Beatriz e Stefany e Gabriela, que estiveram comigo por todos estes anos, nas alegrias e tristezas. Serei eternamente grata por

toda a parceria e companheirismo, pois sei que sem o apoio e o amor de vocês não seria possível viver tudo que vivi.

Ao IFRJ Campus Realengo e Colégio Pedro II - Campus Humaitá II, que durante todo esse tempo me proporcionaram um ensino gratuito de qualidade, abrindo caminho, realizando conexões, me qualificando não só para o mercado de trabalho, como também formando meu caráter como cidadã. Através dessas instituições compreendi que a universidade pública salva vidas e realiza sonhos.

À minha orientadora da UFRJ, Juliana de Sá Almeida, por caminhar comigo durante cerca de 4 anos me apresentando o mundo da Microbiologia Médica, pelo qual me apaixonei, por ter aceitado o desafio de me orientar e por todo auxílio nesse trabalho. Sou muito grata a você e ao Leandro de Araújo Lobo, pela oportunidade de vivenciar a Iniciação Científica no laboratório de anaeróbios na UFRJ, por todo cuidado, carinho e dedicação.

À minha orientadora, Débora Leandro Rama Gomes, por toda confiança e dedicação durante a orientação e construção deste trabalho. Tenho um orgulho muito de ter sido sua aluna e poder fazer parte da sua brilhante e excepcional trajetória como professora do IFRJ.

Aos meus amigos e líderes da Igreja Missionária Evangélica Maranata de Copacabana, que sempre caminharam comigo.

RESUMO

O ácido úrico é o produto final do catabolismo das purinas nos humanos, tendo sua produção proveniente de fontes endógenas e exógenas. A elevação dos níveis de ácido úrico no sangue é ocasionada devido a uma desordem no metabolismo purínico levando ao quadro de hiperuricemia, podendo vir a desenvolver a patologia da gota. Tal desordem ocorre devido a diversos fatores, porém está ligada a dietas ricas em purinas. Além disso, sabe-se que a vitamina A está diretamente relacionada ao aumento das concentrações de ácido úrico. As terapias farmacológicas utilizadas atualmente, além de apresentarem diversos efeitos colaterais, possuem baixa adesão e causam alterações na microbiota intestinal. Por isso, tem se pensado em novas estratégias terapêuticas utilizando a microbiota intestinal com o objetivo de prevenir tais patologias. O presente estudo visa realizar uma breve revisão bibliográfica acerca do papel da microbiota intestinal no metabolismo do ácido úrico e analisar o crescimento bacteriano na presença de ácido úrico 0,1%. Sobre a revisão bibliográfica, foi buscada na base de dados *Pubmed*, *Scielo* e *Science Direct* estudos acerca do metabolismo do ácido úrico, de 2006 a 2022. A partir do levantamento realizado, foram identificados 70 artigos relevantes e após a análise criteriosa dos textos, foram incluídos 37 artigos. Os estudos selecionados mostraram que a microbiota intestinal é responsável pela síntese e secreção de enzimas envolvidas no catabolismo do ácido úrico e que a mesma sofre modificações ao compararmos os pacientes com hiperuricemia, gota e indivíduos saudáveis. Foi possível observar uma maior abundância de algumas bactérias, como *Bacteroides* e *Faecalibacterium* nos pacientes com hiperuricemia assintomática e gota, diferente dos indivíduos saudáveis que apresentam uma maior abundância de *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium* e *Clostridium*. Dessa forma, como um meio de regular a disbiose intestinal e reduzir as concentrações de ácido, propõem-se o uso dos probióticos como forma de auxiliar no tratamento e prevenção da gota e hiperuricemia. Em relação aos experimentos conduzidos em laboratório, foram avaliados o crescimento de bactérias anaeróbias na presença de ácido úrico 0,1%. Para isso, foram realizados experimentos em câmara de anaerobiose analisando o crescimento bacteriano em uma placa de 96 poços incubada a 37° C analisada por 12, 24 e 48 horas. Como resultado, observou-se o crescimento das cepas *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Bacteroides fragilis*. Diante desses resultados, é possível observar que algumas das cepas descritas na literatura realmente são capazes de utilizar o ácido úrico como única fonte de carbono, auxiliando na redução de suas concentrações no organismo. Sendo assim, espera-se que tais cepas se apresentem, futuramente, como um candidato potencial probiótico como alternativa para auxiliar no tratamento e na prevenção da gota e hiperuricemia.

Palavras-chave: Microbiota intestinal. Probióticos. Gota. Hiperuricemia.

ABSTRACT

Uric acid is the end product of catabolism in humans and is produced from endogenous and exogenous sources. Increased levels of uric acid in the blood are caused by a disorder in purine metabolism, leading to hyperuricemia and the possible development of gout. This disorder occurs due to various factors, but is extremely closely linked to diets rich in purines. It is also known that vitamin A is directly related to an increase in uric acid concentrations. The pharmacological therapies currently used, in addition to having various side effects. Have poor adherence and cause changes in the intestinal microbiota, which is why new therapeutic strategies using the intestinal microbiota have been considered with the aim of preventing such pathologies. This study aims to carry out a brief literature review on the role of the intestinal microbiota in uric acid metabolism and to analyze bacterial growth in the presence of 0.1% uric acid. The literature review searched the Pubmed, Scielo and Science Direct databases for studies on uric acid metabolism from 2006 to 2022. From the survey, 70 relevant articles were identified and after careful analysis of the texts, 37 articles were included. The selected studies showed that the intestinal microbiota is responsible for the synthesis and secretion of enzymes involved in the catabolism of uric acid and that it undergoes changes when comparing patients with hyperuricemia, gout and healthy individuals. It was possible to observe a greater abundance of some bacteria, such as *Bacteroides* and *Faecalibacterium* in patients with asymptomatic hyperuricemia and gout, unlike healthy individuals who have a greater abundance of *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium* and *Clostridium*. Thus, as a means of regulating intestinal dysbiosis and reducing acid concentrations, the use of probiotics is proposed as a way of helping to treat and prevent gout and hyperuricemia. With regard to the experiments conducted in the laboratory, the growth of anaerobic bacteria in the presence of 0.1% uric acid was evaluated. To this end, experiments were carried out in the anaerobiosis chamber, analyzing bacterial growth in a 96-well plate incubated at 37° C for 12, 24 and 48 hours. As a result, the growth of the *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Bacteroides fragilis* strains was observed. Given these results, it can be seen that some of the strains described in the literature really are capable of using uric acid as their sole carbon source, helping to reduce its concentrations in the body. It is therefore hoped that these strains will be presented in the future as potential probiotic candidates to help treat and prevent gout and hyperuricemia.

Keywords: Intestinal microbiota. Probiotics. Gout. Hyperuricemia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Diferentes compostos de purina.	13
Figura 2 – Síntese do ácido úrico a partir das purinas.	13
Figura 3 – Ilustração da biossíntese do ácido úrico na presença da enzima uricase.	14
Figura 4 - Vias de eliminação, reabsorção e transportadores do ácido úrico.	15
saudáveis.	27
Figura 6 – Seleção e caracterização dos probióticos capazes de degradar a purina.	29
Figura 7 - Esquema do preparo das amostras na microplaca de 96 poços para a análise do crescimento bacteriano na presença de ácido úrico.	32
Figura 8 - Análise do crescimento de diferentes cepas bacterianas na presença do ácido úrico 01% em 12h.	33
Figura 9 - Análise do crescimento de diferentes cepas bacterianas na presença do ácido úrico 01% em 24h.	34
Figura 10 - Análise do crescimento de diferentes cepas bacterianas na presença do ácido úrico 0,1% em 48h.	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMP	Adenosina
AU	Ácido Úrico
AINE	Anti anti-inflamatórios não esteroides
ATP	Trifosfato de adenosina
AUS	Ácido Úrico Sérico
CS	Corticóides Sistêmicos
DNA	Ácido desoxirribonucleico
E.coli	Escherichia coli
GLUT 9	SLCA 9
GMP	Guanosina
HUA	Hiperuricemia
IMC	Índices de Massa Corporal
NLRP3	Complexo Inflamassoma
NPT 1	SLC14A1
NPT 4	SLC17A3
MSU	Cristais de Urato Monossódico
OAT4	SLC22A11
RNA	Ácido ribonucleico
TLRS	Toll-like
URAT 1	SLC22A12
XO	Xantina Oxidase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
	<i>1.1 Epidemiologia dos casos de hiperuricemia e gota</i>	10
	<i>1.2 Ácido úrico</i>	11
	<i>1.3 Betacaroteno e ácido úrico</i>	14
	<i>1.4 Hiperuricemia e gota</i>	15
	<i>1.5 Microbiota intestinal e probióticos</i>	18
	1.6 OBJETIVOS	21
	1.6.1 Objetivo geral	21
2	DESENVOLVIMENTO	22
	2.1 METODOLOGIA	22
	2.1.1 Revisão bibliográfica	22
	2.1.2 <i>Elaboração de meio de cultura contendo AU e diferentes concentrações de betacaroteno</i>	22
	2.1.2.1 <i>Preparação e coleta da amostra</i>	22
	2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
	2.2.1 Revisão bibliográfica: Modulação da microbiota intestinal no paciente com gota e utilização dos probióticos como prevenção e tratamento da patologia da gota	23
	2.2.1.1 <i>Microbiota intestinal e ácido úrico</i>	24
	2.2.1.2 <i>Tratamento Farmacológico na patologia da gota e hiperuricemia</i>	25
	2.2.1.3 <i>Disbiose intestinal nos indivíduos com gota e HUA</i>	26
	2.2.1.4 <i>Uso dos probióticos como tratamento na patologia da gota e HUA</i>	28
	2.2.2 Estudo Experimental: Avaliação do crescimento bacteriano na presença do AU 0,1%	31
	2.2.2.1 <i>Identificação do crescimento bacteriano</i>	31
	2.2.2.2 <i>Análise de dados e testes estatísticos</i>	33
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
	REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Epidemiologia dos casos de hiperuricemia e gota*

A mudança do padrão comportamental dietético global atualmente proporciona o aumento do consumo de bebidas adoçadas com xarope de milho ou ricas em frutose. Além disso, a ingestão de alimentos com alto teor de purinas, como marisco e carne vermelha, além de bebidas alcoólicas e alto índices de massa corporal (IMC) são fatores que colaboram para o aumento do número de indivíduos com gota (SAPKOTA *et al.*, 2021; ZHANG *et al.*, 2020). As abordagens terapêuticas atuais recomendam o uso de anti-inflamatórios esteroidais, corticosteróides sistêmicos (CS), inibidores da xantina oxidase, fármacos que atuam aliviando a dor e inflamação, como a colchicina, medicamentos uricosúricos, entre outros, que agem como forma de intervenção para tal patologia. Todavia, além de tais medicamentos induzirem uma série de efeitos colaterais, algumas abordagens terapêuticas para a redução de urato possuem uma baixa adesão devido ao extenso tempo de tratamento, entre outros fatores, como reações de hipersensibilidade e interferências no metabolismo da glicose, apresentando uma baixa resposta ao tratamento. Ademais, na grande maioria das intervenções medicamentosas utilizam-se farmacoterapias focadas na resolução dos problemas já instaurados da hiperuricemia e gota, não havendo uma preocupação com a prevenção da doença (DANDAN-HILAL; BRUNTON, 2015; JAMES *et al.*, 2021; ZHAO *et al.*, 2022).

Consequentemente, as notificações do aparecimento da gota no mundo a cada dia mais ganham uma maior proporção. Entretanto, ainda existe uma grande dificuldade na determinação do seu diagnóstico e tratamento (PASCART; LIOTÉ, 2019). Dessa forma, viu-se a necessidade de uma maior compreensão da sua patogênese e da criação de métodos de tratamento mais eficazes. Com isso, começou-se a pensar na relação da gota com a microbiota intestinal, utilizando-a como forma de prevenção e tratamento, tendo em vista seu papel na regulação de energia e suas funções metabólicas, exercendo um papel significativo no metabolismo do ácido úrico (WANG *et al.*, 2022). Além disso, estudos relatam a existência de modificações aparentes na microbiota intestinal ao compararmos indivíduos saudáveis e pacientes com gota. Tais alterações podem estar relacionadas ao desenvolvimento e agravamento da doença (UL-HAQ *et al.*, 2022).

1.2 Ácido úrico

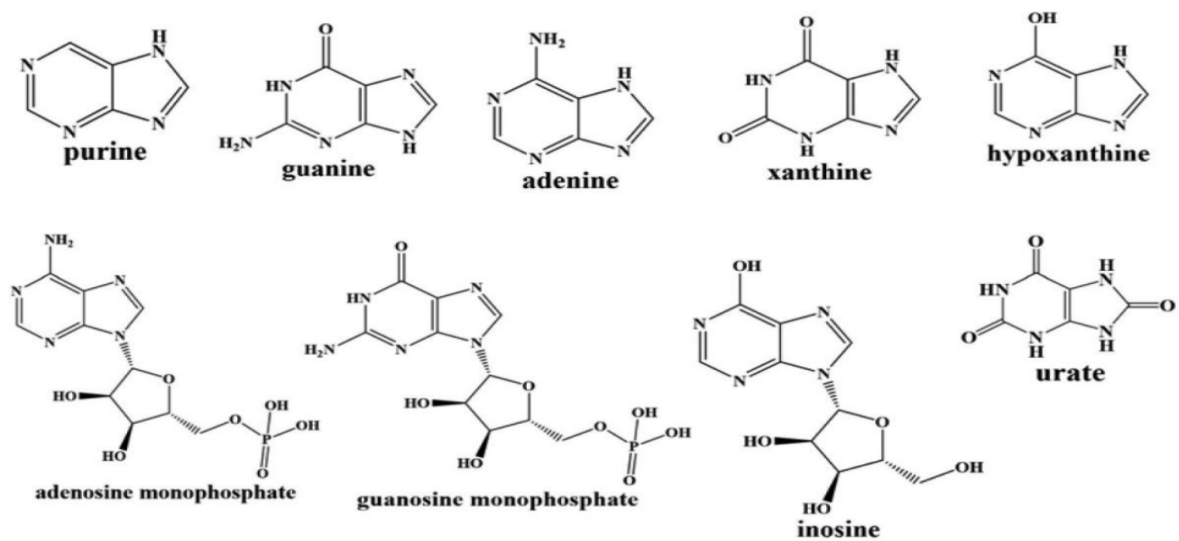
O ácido úrico (AU) é um composto sintetizado pelos humanos, caracterizado por ser um ácido fraco, com pKa de aproximadamente 5,8 e de baixa solubilidade em água e no plasma. Por essa razão é encontrado na forma de urato em pH fisiológico. Existem alguns fatores que podem alterar sua solubilidade, como a temperatura e alteração do pH. A produção do AU ocorre no fígado, músculo e tecido adiposo, sendo proveniente dos mononucleotídeos de purina oriundos de fontes exógenas. São encontrados em alimentos como frutos do mar, carne vermelha, cerveja, bebidas adocicadas com xarope de milho com alto teor de frutose ou fontes endógenas através da degradação do ácido desoxirribonucleico (DNA) e ácido nucleico (RNA) (BENN *et al.*, 2018; CHOI; MOUNT; REGINATO, 2005; TONG *et al.*, 2022).

As purinas são compostos que se apresentam de diversas formas, entre elas a de bases purinas (adenina e guanina), nucleotídeos purínicos (ácido adenílico, ácido desoxiadenilato, ácido guanílico), nucleosídeos purínicos (adenosina, guanosina, desoxiadenosina e desoxiguanosina), podendo também fazer parte da estrutura de alguns componentes biológicos como o monofosfato de adenosina (AMP), monofosfato de guanosina (GMP) e o trifosfato de adenosina (ATP) (Figura 1). Dessa forma, o urato é metabolizado através de vias de metabolização da AMP para adenosina, sendo transformado em adenina, inosina e hipoxantina, sucessivamente. Já o GMP é metabolizado em guanosina, em guanina e posteriormente em xantina, tendo a xantina oxidase (XO) como responsável por executar duas etapas consecutivas convertendo hipoxantina em xantina e posteriormente em AU (Figura 2). Amplamente distribuída pelo organismo, a XO pode ser encontrada no plasma, fígado, pulmões, rins, coração e cérebro (JAMES *et al.*, 2021; PACHER *et al.*, 2006).

Nos seres humanos e em alguns primatas, o produto final do catabolismo da purina é o AU, sem haver mais metabolização. No entanto, grande parte dos mamíferos devido à presença da enzima uricase, possuem como produto final do catabolismo da purina a alantoína, que é uma molécula mais solúvel em água, quando comparada ao AU e de fácil excreção (Figura 3). Nos humanos, a eliminação do urato ocorre pelos rins e intestino e essa

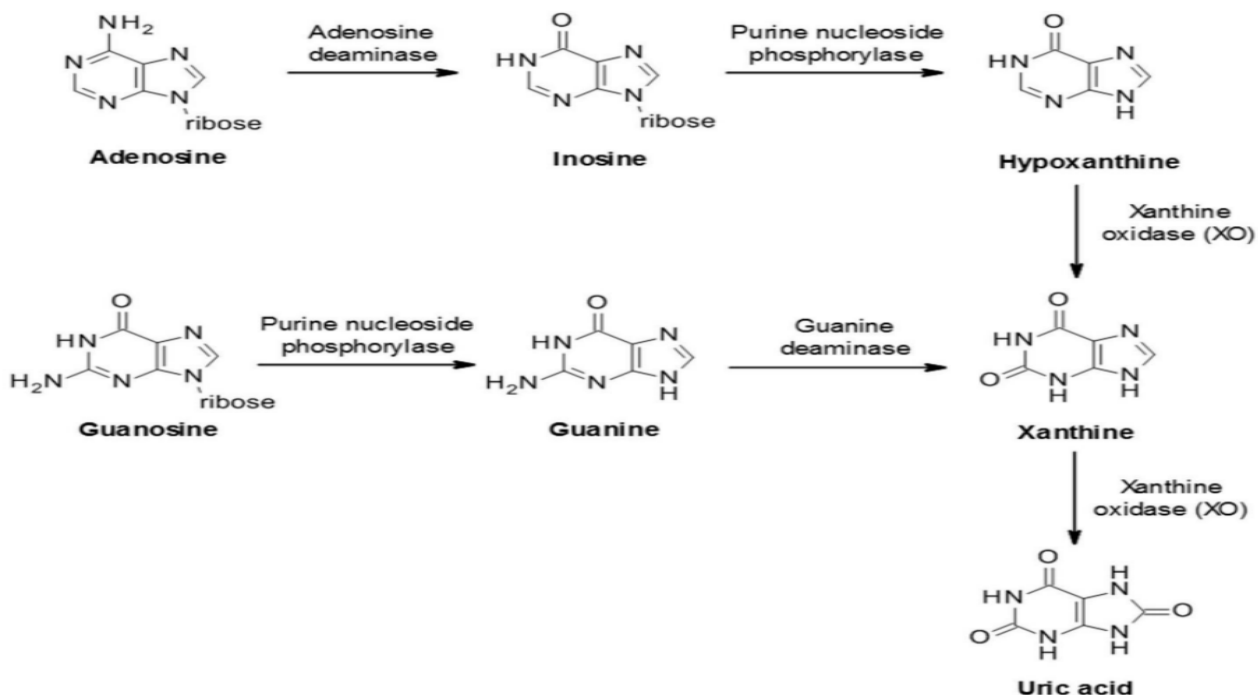
excreção é importante para manter seu limiar de solubilidade em pH fisiológico de 6,8 mg/dL (BENN *et al.*, 2018).

Figura 1 – Diferentes compostos de purina.



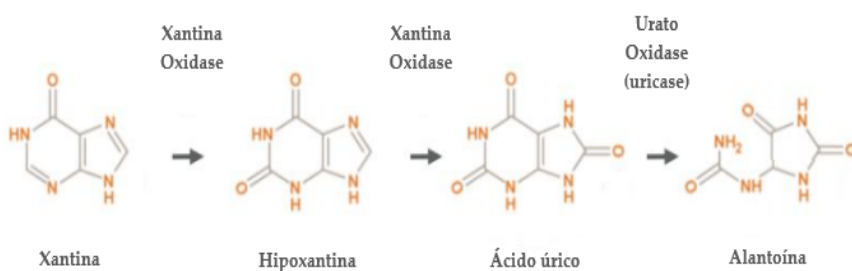
Fonte: JAMES *et al.* (2021).

Figura 2 – Síntese do ácido úrico a partir das purinas.



Fonte: BENN *et al.* (2018).

Figura 3 – Ilustração da biossíntese do ácido úrico na presença da enzima uricase.



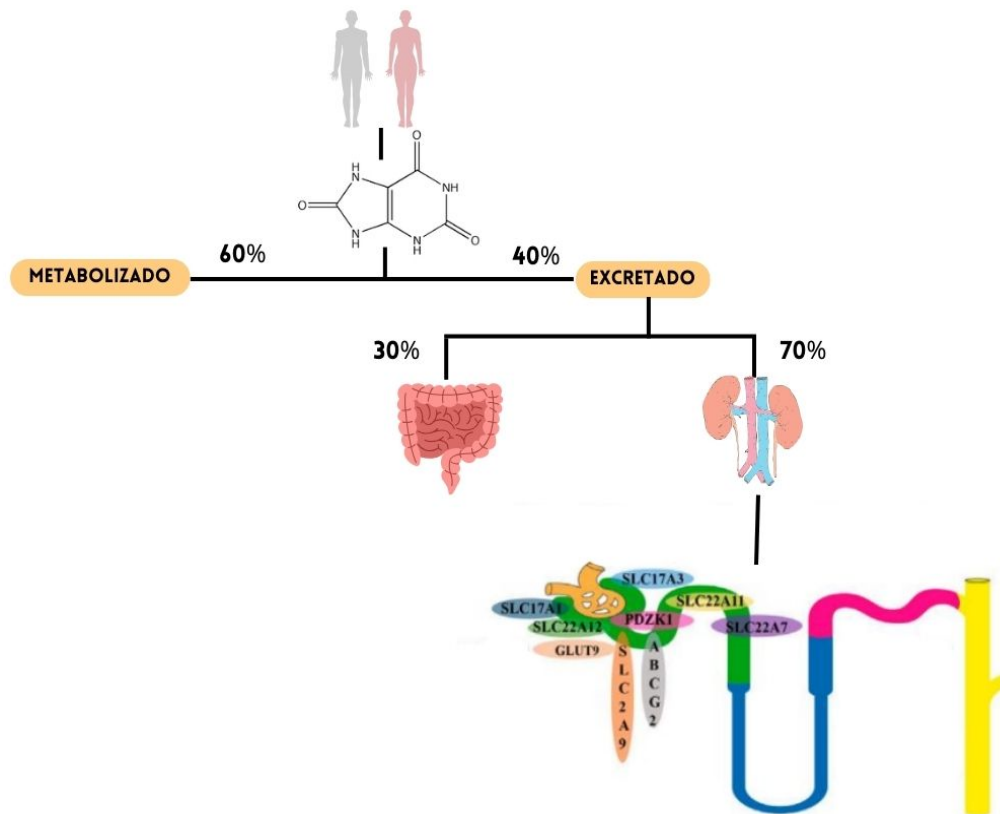
Fonte: Adaptado de DOGHARAMIJI; KOFFMAN (2012).

Os níveis de AU no organismo são regulados através da homeostase entre as reações de produção e excreção. Sendo assim, quando há o desequilíbrio das mesmas, que podem ser proporcionados pelo excesso dietético, fatores genéticos, produção ou excreção excessiva, doenças como diabetes, doenças cardíacas e renais, há a alteração do limiar da concentração

plasmática do AU. Em pessoas saudáveis, cerca de um terço do urato é excretado pelo intestino e dois terços pelos rins, também responsáveis pela reabsorção do AU (Figura 4). Existem transportadores que estão localizados nas células epiteliais intestinais e renais que auxiliam na absorção, secreção e eliminação do AU (TONG *et al.*, 2022; XU *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2020)

Parte do AU dentro do organismo é metabolizada e outra parte excretada através do auxílio de transportadores. entre os transportadores especializados no transporte de AU, podemos citar os que são expressos em diferentes locais do túbulo proximal como o GLUT 9 (SLC2A9) transportador de glicose responsável por reabsorver urato, o NTP1 (SLC14A1) proteína de membrana que atua na absorção do AU, o NPT 4 (SLC17A3) transportador de urato dependente de voltagem, o URAT1 (SLC22A12) que atua na homeostase do urato através da reabsorção, o OAT4 (SLC22A11) e o ABCG2 que atuam no transporte de urato. Entretanto, o GLUT9, URAT1 e o ABCG2 também são expressos no intestino, auxiliando na excreção do AU. Dessa forma, quaisquer alterações nesses transportadores, sejam eles renais ou intestinais, podem ocasionar o aumento dos níveis de Ácido Úrico Sérico (AUS), levando a hiperuricemia e gota (ADOMAKO; MOE, 2022; SUN *et al.*, 2021).

Figura 4 - Vias de eliminação, reabsorção e transportadores do ácido úrico.



Fonte: Adaptado de SUN *et al.* (2021).

1.3 Betacaroteno e ácido úrico

O betacaroteno é um precursor da vitamina A encontrado em alguns vegetais como cenoura, couve, nabo e espinafre que, ao passar por processo de clivagem, produzem a vitamina A, sendo tal presente em alimentos como fígado, cenoura, batata doce e couve ou pode ser encontrada nos suplementos dietéticos como os multivitamínicos. Estudos recentes indicam que os níveis de vitamina A na corrente sanguínea estão associados às concentrações de AUS, devido a capacidade da XO em converter o retinol em ácido retinóico, onde o mesmo é convertido em xantina dando origem ao AU. Sua dose dietética diária recomendada é de 3.000 UI (900 mcg) para homens e 2.310 UI (700 mcg) para mulheres. Entretanto, nota-se o aumento do enriquecimento de vitamina A nos alimentos, a ingestão de doses diárias maiores do que as recomendadas e o uso de suplementos de forma inadequada. Isso proporciona o aumento da concentração do AU. Consequentemente, viu-se que a vitamina A

está inversamente proporcional às concentrações de betacaroteno e diretamente relacionada ao aumento do AU, contribuindo para o aparecimento da hiperuricemia. Diante disso, orientações sobre o uso de vitamina A são de suma importância. Já para os pacientes portadores de gota e hiperuricemia recomenda-se a redução do uso desses alimentos (CHOI *et al.*, 2012; FORD; CHOI, 2013; LIU *et al.*, 2021).

1.4 Hiperuricemia e gota

A Hiperuricemia (HUA) é uma condição fisiológica causada pela elevação dos níveis de AUS, consequência de uma desordem no metabolismo purínico. Pode ser ocasionado devido a fatores como a resistência à insulina, aumento da adiposidade, fatores enzimáticos, consequência da ausência da uricase, além de estar muito associada a uma dieta rica em purinas, alcançando valores maiores que 6,8 mg/dL de AUS. Uma vez que o AUS ultrapasse esse limiar, gera um acúmulo de urato que se deposita nas articulações e no líquido sinovial, formando-se os cristais de urato monossódico (MSU), além de gerar uma alteração da microbiota intestinal. Sua presença nas articulações é capaz de promover um ataque inflamatório intenso devido a sua capacidade de estimular a produção e liberação de mediadores químicos, levando ao que se chama de patologia da gota (CHOI; MOUNT; REGINATO, 2005; WU; YOU, 2023; ZHAO *et al.*, 2022).

A patologia da gota é uma doença inflamatória, também conhecida como artrite gotosa, caracterizada pela formação e deposição dos MSU nas articulações e na circulação sanguínea, devido à supersaturação do urato, consequência de fatores relacionados à genética, ao estilo de vida e a hábitos alimentares, trazendo o aparecimento de dores e inflamação (BENN *et al.*, 2018). A artrite gotosa apresenta duas fases, a gota aguda e a gota crônica, sendo tais diferenciadas através do tempo de convivência com a doença e nível de inflamação (AZEVEDO *et al.*, 2017).

Através do sistema imunológico inato, o organismo humano é capaz de identificar e responder não só a presença de patógenos, como também a liberação de moléculas endógenas oriundas de células hospedeiras liberadas por ação de danos, lesões ou desequilíbrios fisiológicos, em razão da sua capacidade em reconhecer características moleculares específicas. Para que isso ocorra, há a participação das células imunes inatas, como monócitos, macrófagos, mastócitos e neutrófilos, que são responsáveis pelas manifestações

agudas causadas devido à presença dos MSU. Sendo assim, após sua deposição e interação nas articulações, os MSU são reconhecidos por receptores capazes de identificar características específicas do sistema inato, como, por exemplo, o receptores *Toll-like* (TLRS), havendo então fagocitose através dos macrófagos, proporcionando a entrada de neutrófilos. Em seguida, os MSU são reconhecidos pelo complexo inflamassoma (NLRP3). Ativo, o NLRP3 libera IL-1 β e diversos mediadores químicos, dando início a inflamação e suas complicações (KINGSBURY; CONAGHAN; MCDERMOTT, 2011; MARTINS *et al.*, 2021; ZHAO *et al.*, 2022).

Entretanto, a ativação e a sinalização celular iniciada pela presença dos MSU podem ocorrer através de dois mecanismos e em situações diferentes. Na primeira situação ocorre a ativação das células que são opsonizadas, induzindo a fagocitose, havendo a ativação do inflamassoma NLRP3 e a liberação dos mediadores químicos ou pode ocorrer através do mecanismo onde o MSU perturbam a membrana plasmática e as suas proteínas. Há então, uma interação que tem como consequência a ativação da transdução de sinais para a proteína G, fosfolipase C e D. Entretanto, a resposta celular é induzida pelos monócitos e mastócitos responsáveis por promover a inflamação no processo inicial. Neutrófilos têm a mesma função em um momento mais tardio. Uma vez dentro das células os MSU são capazes de induzir um ataque de neutrófilos e ativar citocinas pró-inflamatórias como o IL-8, IL-1, IL-6 e TNF. O estímulo da liberação dessas citocinas e quimiocinas responsáveis pelo processo pró-inflamatório, levam a migração e o aumento do influxo de neutrófilos e monócitos para o local onde há a deposição de MSU, ou seja, no líquido sinovial e no fluido articular (CHOI; MOUNT; REGINATO, 2005; FANG *et al.*, 2022).

O tratamento ideal para a patologia da gota inclui abordagens farmacológicas e não farmacológicas, definidas de acordo com os fatores de risco relacionados ao limiar de AU, a fase clínica, considerando a intensidade da dor, local de deposição dos MSU nas articulações, dentre outros fatores como idade, sexo, dieta, consumo de álcool, interação medicamentosa e comorbidades. As abordagens não farmacológicas precisam ser a primeira ação no manuseio da doença, atuando na modificação do estilo de vida, através da mudança dos hábitos dietéticos, reduzindo a ingestão de alimento ricos em purina e em frutose na forma de xarope de milho, do consumo de bebidas alcoólicas, como a cerveja, além de gerir a dislipidemia e orientar a prática de exercícios físicos e a perda de peso. Tal abordagem é considerada como a primeira linha do tratamento, pois possui um alto potencial de redução não só do AU, como

também do risco de gota (DOGHARAMJI; KOFFMAN, 2012; DOGHARAMJI; WORTMANN, 2012).

Quando a gota já está instaurada no paciente, adota-se abordagens farmacológicas que auxiliam na não-progressão da doença, através da terapia de redução de urato (ULT). Todavia, há uma diferenciação no manejo terapêutico de acordo com o tipo de gota apresentado, podendo ser a gota aguda ou crônica. Ao longo do tempo, a hiperuricemia pode ocasionar o aparecimento da gota aguda, proporcionando a deposição dos MSU nas articulações, limitando-se às curtas e pequenas, como as metatarsofalangeanas, desencadeando a resposta inflamatória inata e a fagocitose dos MSU, sendo caracterizada por ser uma crise com duração de poucos dias. Já a gota crônica é descrita quando os MSU aglomeram-se formando tofos, sendo encontrados em múltiplas articulações, levando a danos e deformidades, erosão óssea e cartilaginosa. Mediante isso, o primeiro objetivo é tratar os sinais das crises da gota aguda e posteriormente, conter a deposição dos cristais de MSU, sendo esse o causador das crises de gota crônica (BARDIN; RICHETTE, 2014; DOGHARAMJI; WORTMANN, 2012).

Dessa forma, na gota aguda o objetivo é realizar a redução da inflamação, alívio da dor e restauração da capacidade articular. Para isso, faz-se o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), colchicina e anti-inflamatórios esteróides ou CS. Já nos casos de gota crônica, a preocupação é realizar a prevenção de novas crises e na manutenção dos níveis de AU dentro do limiar considerado fisiológico. Para isso, utiliza-se a ULT através do uso de medicamentos como o alopurinol, febuxostate, agentes uricosúricos e uricases recombinantes. Os AINEs, agem como anti-inflamatórios através da inibição das enzimas ciclooxigenases (COX), podendo ser seletivos agindo apenas na ciclooxigenase 1 (COX-1) com a aspirina ou para ciclooxigenase 2 (COX-2) como o celecoxibe, ou não seletivos como o ibuprofeno. Já a colchicina faz a inibição da divisão celular, impossibilitando a diapedese, a mobilização e degranulação lisossomal, consequentemente a não liberação de substâncias pró-inflamatórias, além da inibição da formação do inflamassoma NLRP3, impedindo a liberação de IL-1 e IL-8. Os CS ou anti-inflamatórios esteróides, agem suprimindo a resposta imune através da inibição das prostaglandinas e leucotrienos, inibindo os fatores de transcrição pró-inflamatórios e das citocinas inflamatórias IL-1, IL-6, IL-8 e TNF-alfa (AZEVEDO *et al.*, 2017).

O alopurinol é um inibidor da xantina oxidase, caracterizado por ser rapidamente absorvido e por possuir um tempo de meia vida plasmática curto. O febuxostate, diferente do alopurinol, é um medicamento com um custo mais elevado, caracterizado por ter alta biodisponibilidade, que inibe de forma seletiva a XO, diminuindo os níveis de urato. Com

relação aos agentes uricosúricos, podemos citar a promenencida e benzobromarona, que agem impedindo a reabsorção do AU através do transportador URAT-1. Entretanto, o grande problema das abordagens farmacológicas está na sua capacidade em promover efeitos colaterais indesejáveis e a capacidade de alterar a microbiota intestinal (DANDAN-HILAL; BRUNTON, 2015; KELLY; KRISHNAN, 2011; TONG *et al.*, 2022).

1.5 Microbiota intestinal e probióticos

A microbiota intestinal é composta por uma diversidade de micro-organismos, como bactérias, fungos e protozoários, que juntos contribuem para a formação de uma comunidade ecológica de alta complexidade e diversidade taxonômica, sendo responsável pela integridade da barreira epitelial, conservação do metabolismo intestinal e homeostase imunológica. Ou seja, a microbiota intestinal é responsável pelo bom funcionamento fisiológico, além de revelar manifestações patológicas devido às suas funções metabólicas. Dessa forma, começou-se a pensar que a mudança da microbiota intestinal está diretamente relacionada ao aparecimento de diversas patologias, como a gota. Diferente dos humanos, as bactérias são portadoras da enzima uricase, sendo capazes de degradar por completo o AU. À vista disso, é possível atestar que há uma diferença na microbiota intestinal de indivíduos saudáveis e pacientes com gota (ADOMAKO; MOE, 2022; TONG *et al.*, 2022).

Sendo assim, quaisquer alterações envolvendo cepas responsáveis pelo metabolismo purínico na composição da microbiota intestinal, servem como parâmetro de distinção entre os pacientes saudáveis e indivíduos com gota (SHAO *et al.*, 2017). Dessa maneira, notou-se que os indivíduos com gota e HUA, quando comparados aos pacientes saudáveis, possuem a diminuição da abundância relativa e da diversidade da microbiota. Pacientes com gota possuem uma maior abundância de *Bacteroides* e *F. prausnitzii* e menor prevalência de *Firmicutes* e *Ruminococcus*. Sendo assim, os probióticos surgem como uma forma de regularizar e manter equilíbrio da composição da microbiota intestinal, vista a sua capacidade de inibir a XO e reabsorver o AU (DING *et al.*, 2019; FANG *et al.*, 2022; YUAN *et al.*, 2022).

Segundo a ANVISA, os probióticos são microrganismos que, ao serem administrados em quantidades adequadas, podem oferecer vantagens à saúde do hospedeiro. No organismo humano, tais microrganismos possuem uma vasta funcionalidade, sendo capazes de normalizar a inflamação intestinal, atuando na prevenção contra o aumento da permeabilidade

intestinal e translocação bacteriana, que ocasiona a interrupção das funções proporcionadas pela barreira intestinal. Além disso, são capazes de modular a entrada de células envolvidas no processo pró-inflamatório no tecido intestinal nas articulações (ZENF *et al.*, 2022). A utilização dos probióticos para o bom funcionamento da saúde intestinal ocorre devido aos seus diferentes mecanismos de ação como, por exemplo, a sua capacidade em auxiliar na manutenção dos níveis de AU (TONG *et al.*, 2022).

Os probióticos agem de forma segura através de diversos mecanismos, podendo inibir o metabolismo da purina, atuar na degradação de nucleosídeos como a iosina, regular a disbiose intestinal, atuar sobre a inflamação causada pelo MSU, dentre outras ações, apresentando pequenos efeitos colaterais, diferente dos tratamentos convencionais utilizados para a patologia da gota, que possuem baixa adesão devido aos diversos efeitos colaterais apresentados (OLIVEIRA; SPINELLA, 2020; WANG *et al.*, 2022). Dessa forma, é de suma importância estudar e entender a microbiota intestinal e suas alterações na gota, uma vez que no curso da doença é observado uma mudança na microbiota ali existente. Logo, explorar novas estratégias de tratamento utilizando a microbiota através dos probióticos tem sido uma boa saída terapêutica, visto que evidências demonstram que existe uma correlação entre a microbiota intestinal, gota e hiperuricemia.

Mediante isso, este trabalho torna-se importante para maior compreensão da microbiota intestinal e suas alterações, resultantes da deposição MSU nas articulações, como consequência da HUA, que está relacionada com elevadas concentrações de AUS. Essas altas concentrações de AUS podem ser oriundas de uma disfunção metabólica, que quando não são excretadas pelos rins e intestino, acumulam-se dando origem à gota. Diante disso, revisar novas alternativas eficazes, com baixos efeitos colaterais, vêm sendo estudadas como uma forma de auxiliar no tratamento dessa patologia. E dentre elas, a microbiota intestinal é alvo de pesquisas recentes com o objetivo de tentar diminuir os níveis de AU, principalmente em pacientes crônicos através do uso de probióticos e prebióticos com atividade específica, em associação com as abordagens farmacológicas e não farmacológicas atuais, agindo como coadjuvante, melhorando a eficácia e aumentando a adesão ao tratamento.

A patologia da gota pode levar a sintomas indesejáveis e sérias complicações no paciente. Os tratamentos disponíveis hoje, causam diversos efeitos colaterais nos pacientes. Por isso, é importante a revisão das terapias farmacológicas e não farmacológicas na busca por novas terapias com maior aprovação. Em suma, revisar novas estratégias utilizando a

microbiota através dos probióticos, são bem-vindas para auxiliar o tratamento e prevenção dessas patologias de forma promissora.

1.6 OBJETIVOS

1.6.1 Objetivo geral

Realizar breve revisão bibliográfica acerca do papel da microbiota intestinal no metabolismo do ácido úrico e análise do crescimento bacteriano na presença de ácido úrico 0,1%.

1.6.2 Objetivos específicos

- Realizar levantamento bibliográfico sobre problemas relacionados às terapias farmacológicas atuais para a patologia da gota e HUA, a modulação da microbiota intestinal e o uso de probióticos;
- Elaborar meio de cultura contendo AU e diferentes concentrações de betacaroteno;
- Analisar a modulação da microbiota intestinal no paciente com gota e utilização dos probióticos como prevenção e tratamento da patologia da gota;
- Realizar a análise do crescimento de bactérias anaeróbias na presença do AU 0,1% e betacaroteno em diferentes concentrações;

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 METODOLOGIA

2.1.1 Revisão bibliográfica

Trata-se de uma revisão bibliográfica com abordagem descritiva e de caráter exploratório que visa realizar levantamento de artigos relacionados aos problemas relacionados às terapias farmacológicas atuais para a patologia da gota e HUA, a modulação da microbiota intestinal e ao uso de probióticos para tal.

A pesquisa bibliográfica baseou-se no levantamento de dados da leitura científica publicados do período de 2006 a 2022. Esse levantamento foi realizado utilizando os bancos de dados *National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine* (PubMed - NCBI), *Scientific Electronic Library Online* (Scielo) e *Science Direct*. Foram utilizadas as seguintes palavras-chave, com ou sem combinações entre si: *gout, probiotics, uric acid, hyperuricemia, gut microbiota, intestinal microbiota, fructose, beta-carotene, inflammation mechanism* e *pharmacological treatment*. Como critérios de exclusão, foram desconsiderados artigos que se repetiam nas diferentes bases de dados e artigos que não se aplicavam ao tema.

2.1.2 Elaboração de meio de cultura contendo AU e diferentes concentrações de betacaroteno

Trata-se de uma pesquisa qualitativa experimental, apoiada em experimentos realizados na bancada do laboratório de Biologia de Anaeróbios do IMPPG/UFRJ (Instituto de Microbiologia Paulo de Góes), localizado no Rio de Janeiro.

2.1.2.1 Preparação e amostras bacterianas

Para a realização da preparação da coleta e das amostras foi necessário realizar a montagem de um estoque, utilizando-se de cepas que fazem parte da coleção de culturas do laboratório de Biologia de Anaeróbios do IMPG/UFRJ (Instituto de Microbiologia Paulo de Góes), sendo estas bactérias anaeróbicas que são encontradas nas fezes como *Lactobacillus plantarum* (8414), *Lactobacillus rhamnosus* (GG), *Lactobacillus sakei* (906) e *Bacteroides fragilis* (638R) sendo plaqueadas em Ágar Sangue e posteriormente transferidas para um BHI caldo para a realização de futuros experimentos. Todas as colônias foram retiradas da placa de acordo com sua aparência e morfotipo, partindo desse princípio, todas foram inoculadas para garantir sua pureza e então armazenadas a - 80 °C.

As cepas foram cultivadas anaerobicamente em meio *Brain Heart Infusion* (BHI-Oxoid cambridge, UK), pré reduzido e esterilizado anaerobicamente, suplementado com hemina (0,5 mg/mL- sigma) e menadiona (10 mg/mL) incubada em uma estufa a 37 °C (JOUSIMIES-SOMER; SUTTER, 2002). Essas colônias foram estocadas e posteriormente identificadas por espectrometria de massas (Maldi-TOF, Bruker, EUA). A partir do seu crescimento, as cepas foram cultivadas em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI-Oxoid cambridge, UK), pré-reduzido e esterilizado anaerobicamente (PRAS), suplementado com hemina (0,5 mg/mL- Sigma) e menadione (10 mg/mL-sigma, St Louis, MO, USA) e incubada em anaerobiose a 37°C.

Todos os experimentos foram realizados na câmara de anaerobiose contendo uma atmosfera definida (80% N_2 10% CO_2 e 10% H_2) (JOUSIMIES-SOMER; SUTTER, 2002). Entretanto, para a realização dos experimentos do crescimento bacteriano na presença ou ausência do AU, as referidas cepas foram inoculadas em 4 mL de BHI caldo e foram incubadas por 24 horas a 37 °C, a fim de observar seu crescimento. Após esse período as culturas foram ajustadas para uma DO_{600nm} de 0,5 para assim dar início ao experimento.

2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.2.1 Revisão bibliográfica: Modulação da microbiota intestinal no paciente com gota e utilização dos probióticos como prevenção e tratamento da patologia da gota

Durante a busca inicial nas bases de dados, foi observado que o *Pubmed* e *Scielo* foram as plataformas onde todas as publicações se concentram. Na base do *Science Direct* foi possível encontrar poucos artigos, também encontrados no *Pubmed*. Consequentemente, para a pesquisa, só foram consideradas as publicações encontradas no *Pubmed* e *Scielo*.

Com a utilização dos descritores e recorte temporal (de 2006 a 2022), foram identificados 71 artigos relevantes. Estes foram submetidos à leitura de resumos, a fim de realizar a seleção dos estudos relacionados ao tema proposto. Dessa forma, foram excluídos 24 artigos e eleitos 47 para a leitura integral do texto. Após a análise criteriosa dos textos na íntegra, foram incluídos 37 artigos, sendo 5 sobre gota, 5 relacionados à hiperuricemia, 1 abordando probióticos, 2 descrevendo os transportadores de ácido úrico, 5 demonstrando os tratamentos farmacológicos para gota e/ou hiperuricemia, 3 sobre a relação do ácido úrico com a vitamina A e betacaroteno, 10 analisando a microbiota intestinal dos indivíduos com gota e/ou hiperuricemia, 3 relatando a relação da frutose com a gota e/ou hiperuricemia, 2 destrinchando o mecanismo de inflamação da gota e 1 manual de bactérias anaeróbicas. A seleção dos artigos foi um ponto crítico durante a busca na base de dados, pois não foram encontrados mais estudos artigos acerca da modulação da microbiota intestinal nos paciente com artrite reumatoide e HUA, e como a mesma pode ser utilizada para a criação de probióticos como uma forma de tratamento, pois seu manejo terapêutico ainda é muito recente, o que demonstra a falta de pesquisas conduzidas para a aplicação de uma nova farmacoterapia, além de cartilhas para a orientação de cuidados e prevenção de tais patologias.

2.2.1.1 Microbiota intestinal e ácido úrico

A microbiota intestinal, um ecossistema, responsável pelo bom funcionamento fisiológico do hospedeiro, onde os microrganismos ali existentes participam do metabolismo energético, na absorção nutricional e nas funções imunológicas. Dessa forma, sabe-se que a diversidade e a abundância das bactérias presentes na microbiota intestinal são responsáveis por estabelecer alguns fatores fisiológicos como pH e motilidade. O baixo nível de oxigênio

no ambiente do trato intestinal, restringe o crescimento de diversas bactérias, fazendo assim, com que a microbiota intestinal seja composta por cerca de 99% de espécies bacterianas anaeróbicas, onde há a predominância de 6 filos, sendo estes: *Firmicutes* (por exemplo, *Lactobacillus*, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Eubacterium* e *Faecalibacterium*), *Actinobacteria* (por exemplo, *Bifidobacterium*), *Proteobacteria* (por exemplo, *Escherichia*), *Bacteroidetes* (por exemplo, *Prevotella*), *Verrucomicrobia* e *Euryarchaeota* (MADHOGARIAA; BHOWMIK; KUNDUA, 2022).

A microbiota intestinal é responsável pela síntese e secreção de enzimas responsáveis pelo catabolismo do AU, onde bactérias como a *Escherichia coli* (*E. coli*) secretam a xantina desidrogenase, enquanto os *Lactobacillus* e *Pseudomonas* sintetizam não só a uricase, como também a alantoinase e alantoicase. Desse modo, degradam o AU em 5-hidroxiisourato, alantoína, alantoato e uréia, respectivamente (GUO, *et al.*, 2016). Já a *E. coli*, além de ser capaz de secretar a XO, assim como o *Proteus*, também possui a enzima uricase, encontrada em *Bacillus pasteurii* e *Proteus mirabilis*, enquanto cepas de *Bifidobacterium* (*B. longum*) agem reduzindo a resposta inflamatória e os níveis de AUS (FANG *et al.*, 2022; JAMES *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2022). Enquanto isso, algumas cepas de *Lactobacillus*, como o *Lactobacillus gallini*, além de reduzirem as concentrações de purina, são capazes de diminuir a quantidade de urato através dos seus produtos de fermentação, enquanto cepas de *Lactobacillus gasseri* atuam na redução das purinas no intestino (TONG *et al.*, 2022).

2.2.1.2 Tratamento Farmacológico na patologia da gota e hiperuricemia

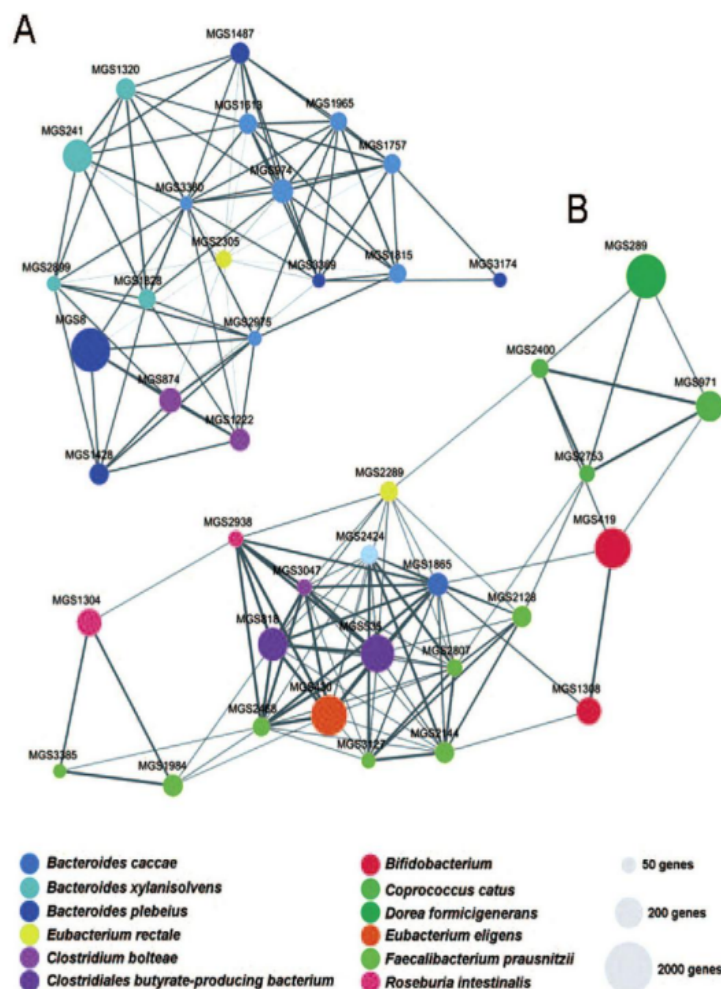
A microbiota intestinal sofre alguns impactos decorrentes ao tratamento farmacológico para a gota e HUA. Alguns estudos com ratos com HUA tratados com alopurinol e benzobromarona indicaram que tais medicamentos foram capazes de alterar a microbiota intestinal, levando ao aumento do número de *Bifidobacterium* em ambos os casos, o que ocasionou o aumento do AU, isso porque tal bactéria é responsável pela secreção de XO. Entretanto, no tratamento com a benzobromarona, também pode-se observar que houve um aumento significativo de *Proteus*, levando ao aumento da produção do AU, pois tal bactéria é capaz de secretar a xantina desidrogenase enzima responsável pelo metabolismo oxidativo das purinas. Além disso, viu-se também que o tratamento com a benzobromarona provocava a diminuição de *Ruminococcus*, bactérias produtoras de ácidos graxos de cadeia curta responsáveis por regular a resposta inflamatória, ocasionando dificuldades na formação do inflamassoma. A colchicina, recomendada para no tratamento da gota aguda, é

potencialmente tóxica para o trato gastrointestinal, diferente da benzobromarona, hepatotóxica, que provoca efeitos adversos como náuseas, vômito, diarreia, dor abdominal. Dessa forma, o uso desse medicamento está associado de forma direta a distúrbios da microbiota intestinal. Outro efeito causado pelo uso do Alopurinol é a hipersensibilidade, queixa principal após meses ou mesmo anos do início do tratamento (DANDAN-HILAL; BRUNTON, 2015; LIN *et al.*, 2021; TONG *et al.*, 2022; WANG *et al.*, 2021).

2.2.1.3 Disbiose intestinal nos indivíduos com gota e HUA

Nos últimos anos, estudos identificaram que a microbiota intestinal dos pacientes com HUA e os indivíduos com gota sofrem alterações consideráveis. Por consequência, a microbiota intestinal de tais pacientes é caracterizada por ser pouco diversa, possuir alterações estruturais e com menor abundância relativa, quando comparamos com os pacientes saudáveis. Nos pacientes com gota pode-se perceber um aumento da presença dos gêneros bacterianos, como *Bacteroides* (*Bacteroides caccae*, *Bacteroides xylanisolvens*, *Bacteroides plebeius*), *Clostridium bolteae* e *Eubacterium rectale*. Entretanto notou-se uma deficiência em *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum* e Enterobacteriaceae ao comparar a microbiota desses pacientes com indivíduos saudáveis (Figura 5). Entretanto, outros estudos mostram que gêneros bacterianos como *Holdemania*, *Anaerotruncus*, *Prevotella* e *Fusobacterium* também se encontram em maior quantidade nos pacientes com gota. Já os gêneros *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Roseburia* e *Bifidobacterium* foram recorrentes nos pacientes com HUA assintomática, enquanto o *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium* e *Clostridium* encontram-se nitidamente em maior abundância nos indivíduos saudáveis.

Figura 5 – Variação taxonômica da microbiota intestinal dos indivíduos com gota e pacientes saudáveis.



Legenda: Redes de espécies metagenômicas diferencialmente abundantes enriquecidas em pacientes com gota ($n = 19$, painel A) e indivíduos saudáveis ($n = 22$, painel B). A largura da borda é proporcional à força da correlação. O tamanho do nó é proporcional à abundância média na respectiva população. Nós com a mesma cor são classificados na mesma espécie filogenética. Cada nó representava uma espécie metagenômica. Fonte: GOU *et al.* (2016).

O gênero *Bifidobacterium*, possui diversas funções, dentre a capacidade de atuar na maturação do sistema imunológico, enquanto o *Faecalibacterium prausnitzii* e *Clostridium* atuam na saúde intestinal através da síntese do butirato, além das suas características anti-inflamatórias. O ácido butírico é uma molécula produzida no intestino com capacidade de abastecer os nutrientes, viabilizar e restaurar as vilosidades intestinais, além de ser responsável por inibir o crescimento de bactérias patogênicas. Além disso, notou-se o aumento da proporção de *Firmicutes* para *Bacteroides* e menor de *Prevotella* para *Bacteroides*, o que gerou um sinal de alerta, tendo em vista que a proporção de *Firmicutes* para *Bacteroides* para estar relacionada na garantia do equilíbrio da microbiota intestinal,

enquanto alterações na proporção *Prevotella* para *Bacteroides* foram associados a disbiose intestinal (GOU *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2022).

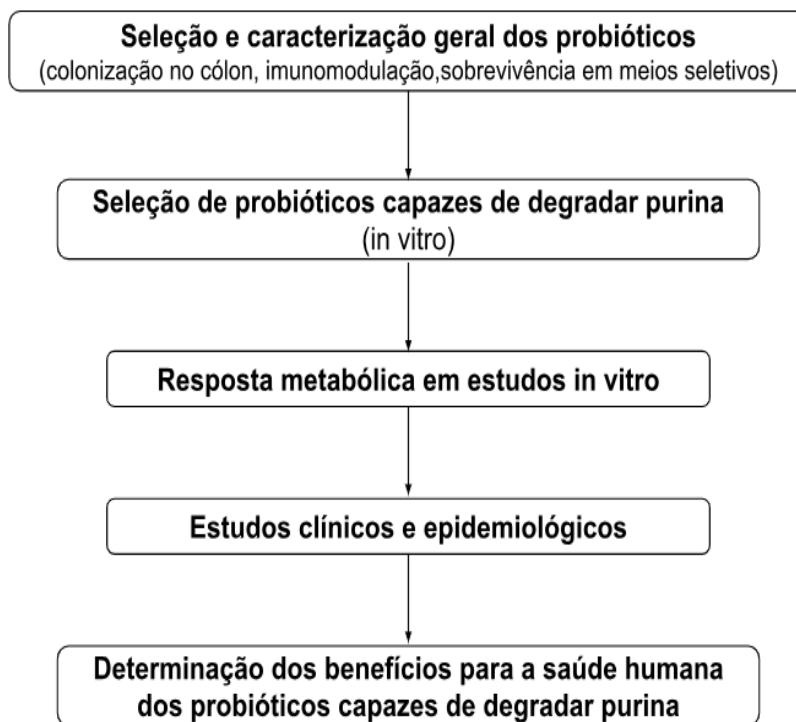
Indivíduos com gota possuem uma maior abundância de *Bacteroides* quando comparados às crianças saudáveis. Tudo isso pode ser justificado pois os *Bacteroides* são enriquecidos da enzima 5-hidroxisourato hidrolase, enzima de suma importância, presente na uricolise intestinal, sendo responsável modular as concentrações de AUS. Tal enriquecimento da família Bacteroidaceae e seus gêneros estão relacionados a doenças autoimunes, como a artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e a diabetes (SHAO *et al.*, 2017; YUAN *et al.*, 2022).

2.2.1.4 Uso dos probióticos como tratamento na patologia da gota e HUA

Os probióticos são microrganismos vivos capazes de regular a saúde da microbiota intestinal, onde em pacientes com gota e indivíduos com HUA, agem na diminuição da inflamação, devido ao aumento da permeabilidade intestinal, inibição da atividade da XO e a reabsorção e excreção do AU podendo ser utilizados como forma de prevenção e tratamento evitando o acúmulo de urato, tendo um potencial ainda maior quando aplicado em conjunto com os prebióticos. É importante frisar que os prebióticos são fibras dietéticas não capazes de serem digeridas. Porém, possuem a habilidade de auxiliar de forma seletiva o crescimento e atividade de determinadas bactérias (FANG *et al.*, 2022; KONDRATIUK *et al.*, 2020).

Para serem utilizados no tratamento da gota e HUA, os probióticos passam por um processo de aprovação através de uma seleção e caracterização (Figura 6) analisando sua capacidade em degradar os compostos purínicos em compostos não purínicos ou mesmo gerar compostos purínicos diferentes. Para isso, analisa-se a habilidade dos microrganismos em resistir às enzimas intestinais, salivares, suco gástrico, ácido pancreático, colonizar e aderir ao epitélio do trato intestinal, auxiliar na estabilidade e integridade da mucosa intestinal e, principalmente, a capacidade de influenciar no sistema imune. Os probióticos auxiliam no sistema imune de forma direta, auxiliando na expressão de antígenos e na diferenciação das células B e indireta através da produção de metabólitos, como os ácidos graxos de cadeia curta e adenosina, modulação das funções das células epiteliais e aumento da produção de muco que podem auxiliar no processo de inflamação dos pacientes com gota (FERRO *et al.*, 2021; JAMES *et al.*, 2021).

Figura 6 – Seleção e caracterização dos probióticos capazes de degradar a purina.



Fonte: Adaptado de JAMES *et al.* (2021).

Em seguida, realiza-se técnicas *in vitro* com objetivo de analisar o crescimento dos probióticos em meios seletivos à base de compostos purínicos ou metabólitos, que podem ser degradados por enzimas envolvidas no metabolismo das purinas. Concomitantemente, são realizados estudo *in vitro* explorando a capacidade dos probióticos em atuar na redução do AUS, HUA e gota através de técnicas imuno enzimáticas, como a técnica de ELISA, proteômica, metabólicas ou técnicas que são capazes de detectar marcadores no sangue, fezes e urina. Ao serem aprovados, passam para os testes clínicos, pois os estudos *in vitro* e em animais não são suficientes para comprovar o efeito benéfico dos probióticos nos humanos. Os testes clínicos e epidemiológicos devem ser realizados em indivíduos voluntários que possuam gota ou HUA, que usam probióticos por via oral, podendo estar em conjunto com alimentos ou na forma de suplemento alimentar, para que assim haja o estudo da sua eficiência, aplicabilidade e análises das recomendações, que podem ser comprovadas através de estudos de caso-controle, controle-placebo, duplo cego, estudos cruzados de controle com

placebo, entre projetos experimentais. Ao final, temos um conjunto de cepas probióticas que são capazes de exibir características de degradação de purinas, diminuir o AUS, evitando a HUA e a gota, podendo apresentar diferentes formas farmacêuticas como comprimido, sachê ou cápsula (JAMES *et al.*, 2021).

Atualmente, as cepas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são as mais encontradas nas composições dos probióticos para o tratamento da gota e HUA devido à maior compreensão das funções no organismo humano, capacidade de restabelecer a saúde da microbiota após o uso de fármacos e por apresentarem efeitos colaterais negativos. Tais bactérias são caracterizadas como bacilos que possuem uma alta sobrevivência no intestino, devido à sua capacidade de produzir esporos, sendo esse seu mecanismo de proteção contra o ambiente ácido do estômago, fazendo assim, com que essas bactérias cheguem íntegras ao intestino. Ademais, viu-se que tais cepas se mostravam capazes de reduzir os níveis de AUS. Todavia, para que haja o bom funcionamento desses probióticos é necessário mudar hábitos alimentares, praticar exercícios e realizar consultas médicas periódicas (BUNGAU *et al.*, 2021; JAMES *et al.* 2021).

Dessa forma, viu-se que os probióticos constituídos por cepas de *Lactobacillus reuteri* e *Lactobacillus fermentum*, *Lactase Bacillus rhamnosus* (GG), *Limos Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus gasseri* são capazes de reduzir a produção de AUS, pois os lactobacilos impedem o aumento do AU através da inibição da XO. *Lactobacillus fermentum*, por exemplo, é uma espécie que é utilizada isolada em produtos lácteos, cuja função é melhorar a distribuição das bactérias probióticas, auxilia nas funções intestinais, diminuindo a concentração de AUS, reduzindo sua reabsorção tanto intestinal, quando renal, consequentemente, reduzindo a inflamação causada pela deposição do AU (LI *et al.*, 2022; ZHAO *et al.*, 2022)

Diferente dos *Lactobacillus*, as cepas de *Bifidobacterium* agem diminuindo a gravidade e a progressão da gota, reduzindo a quantidade de citocinas inflamatórias, como a IL-6, no sangue ou podem agir sobre inflamações geradas por tais citocinas. *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum* e *Bifidobacterium longum* são as espécies mais utilizadas na composição dos liberações da IL-10. Dessa forma, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são utilizados em associação nos indivíduos com artrite reumatoide, todavia, ainda não se sabe sobre como ocorre o processo de interação entre as cepas probióticas (BUNGAU *et al.*, 2021; FERRO *et al.*, 2021).

2.2.2 Estudo Experimental: Avaliação do crescimento bacteriano na presença do AU 0,1%

2.2.2.1 Identificação do crescimento bacteriano

Foi realizada a análise das bactérias selecionadas capazes de crescer ou não na presença do AU, utilizando-se uma placa de poliestireno de 96 poços (KASVI). Houve identificação e comparação do comportamento das bactérias na presença ou ausência do AU 0,1%, no meio mínimo (Quadro 1). Além disso, foram realizados testes de crescimento bacteriano na presença de diferentes concentrações de betacaroteno (SIGMA) (2,5 µg, 5 µg, 10 µg e 20 µg) disponíveis no laboratório de anaeróbios.

A microplaca de 96 poços foi incubada a 37°C por 12, 24 e 48 horas em anaerobiose. Após 12h, as densidades ópticas dos poços da microplaca foram verificadas no leitor de espectrofotômetro de microplacas no comprimento de onda de 620 nm. Em seguida, a microplaca foi incubada novamente e lida após 24h e por último após 48h de incubação (Figura 7).

Quadro 1 – Componentes do meio mínimo.

Água destilada	1L
Fosfato de potássio (KH_2PO_4)	3g
Cloreto de sódio ($NaCl$)	0,5g
Sulfato de magnésio heptahidratado ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,5g
Cloreto de cálcio ($CaCl_2$),	2g
Ágar	12g

Fonte: A autora (2023).

Figura 7 - Esquema do preparo das amostras na microplaca de 96 poços para a análise do crescimento bacteriano na presença de ácido úrico.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												

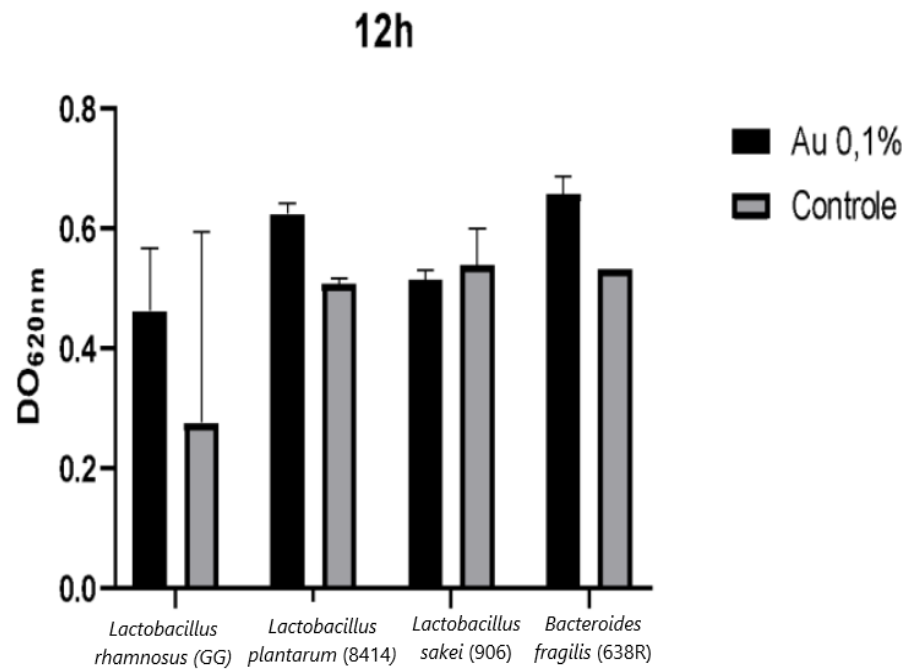
Legenda: Meio mínimo + AU 0,1% (laranja); *Bacteroides fragilis* (638R) (azul); Betacaroteno (verde); Meio mínimo (preto); *Lactobacillus plantarum* (8414) (roxo); *Lactobacillus rhamnosus* (GG) (marrom); *Lactobacillus sakei* (906) (amarelo). Fonte: A autora (2023).

No intuito de investigar o potencial de crescimento de bactérias anaeróbias na presença de AU 0,1% - pesquisa pioneira elaborada pela pesquisadora M. Sc. Juliana de Sá Almeida - foram realizados estudos preliminares baseados no comportamento das bactérias anaeróbias, presentes no trato gastrointestinal, relacionadas ao metabolismo do AU. Dessa forma, analisou-se o crescimento bacteriano das cepas *Lactobacillus plantarum* (8414), *Lactobacillus rhamnosus* (GG), *Lactobacillus sakei* (906) e *Bacteroides fragilis* (638R) na presença e na ausência do ácido úrico, realizando leituras pontuais em 12h, (Figura 8) 24h (Figura 9) e 48h (Figura 10), a fim de observar a diferença do crescimento bacterianos nesses tempos.

2.2.2.2 Análise de dados e testes estatísticos

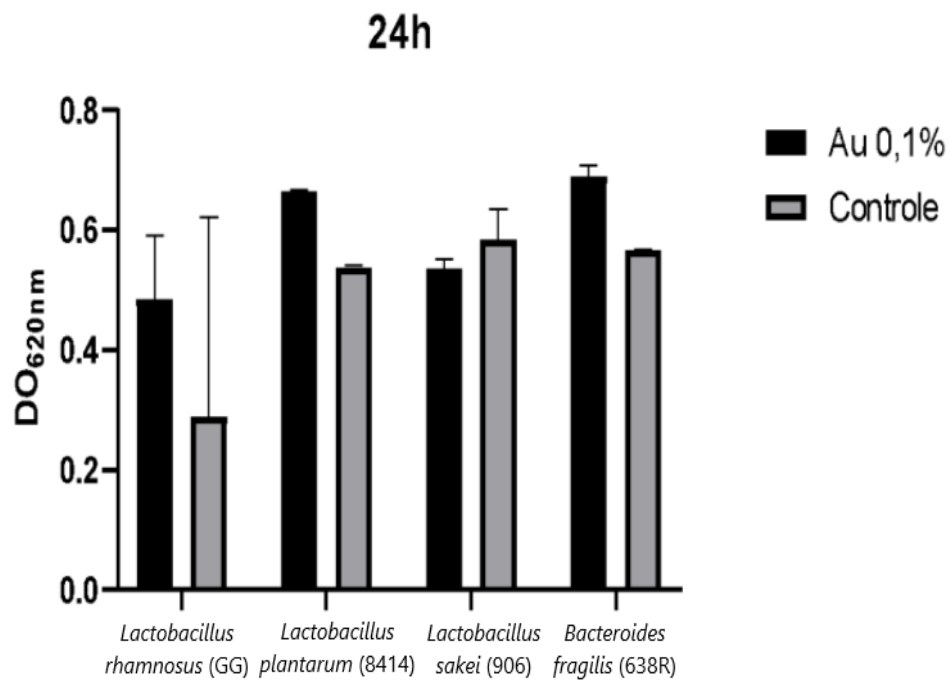
Os dados são resultado de pelo menos dois testes independentes feitos em duplicatas. Com as médias de leitura de cada poço foi realizado o cálculo de desvio padrão, intervalo de confiança. Para comparar as amostras, foi utilizado o teste de ANOVA.

Figura 8 - Análise do crescimento de diferentes cepas bacterianas na presença do ácido úrico 01% em 12h.



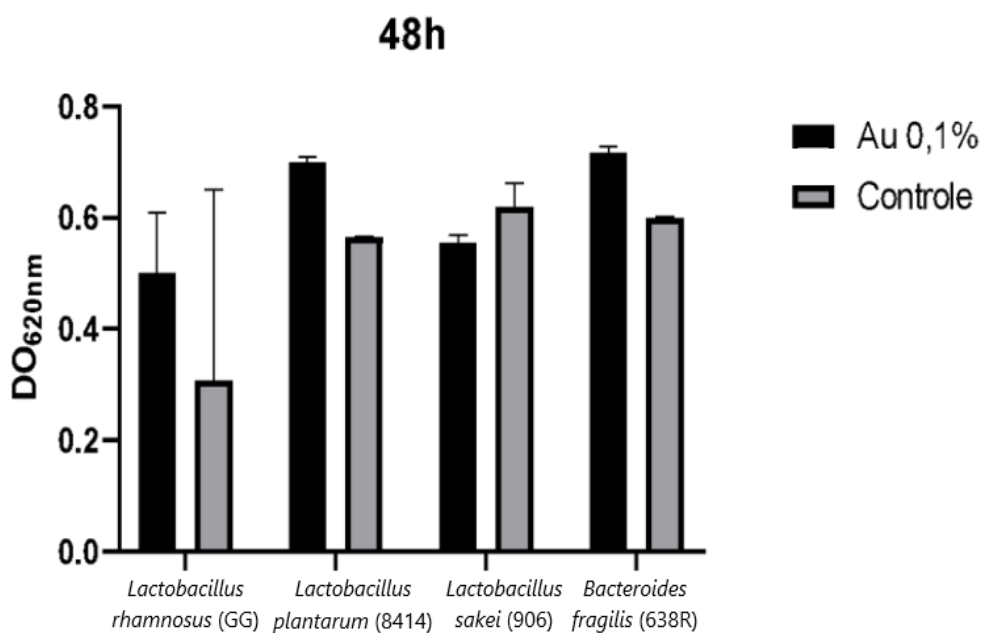
Fonte: A autora (2023).

Figura 9 - Análise do crescimento de diferentes cepas bacterianas na presença do ácido úrico 01% em 24h.



Fonte: A autora (2023)

Figura 10 - Análise do crescimento de diferentes cepas bacterianas na presença do ácido úrico 0,1% em 48h.



Fonte: A autora (2023).

À vista disso, foi possível observar o aumento do crescimento bacteriano das cepas testadas, com exceção da cepa *Lactobacillus sakei*. Por consequência, esse experimento indicou que as cepas *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Bacteroides fragilis* utilizam o AU como única fonte de carbono para o crescimento. Ademais, observa-se que, ao realizar uma análise comparativa do crescimento entre os gráficos, conforme o decorrer das horas, há um aumento gradual do crescimento das cepas *B. fragilis* e *L. Plantarum* ($p < 0,0001$). Por fim, foi dado o início dos testes na presença de diferentes concentrações do betacaroteno contendo AU 0,1%, entretanto, tais resultados não apresentaram relevância para a pesquisa.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde a década de 90, a microbiologia é importante para o diagnóstico e tratamento de diversas patologias. A inovação dessas pesquisas clínicas aponta saídas terapêuticas para a área da saúde. Hoje, tem-se um maior conhecimento que grande parte das disbioses intestinais estão relacionadas ao aparecimento de doenças, o uso irracional de medicamentos, alterações genéticas e ao estilo de vida. Isso leva ao aumento do consumo e dos estudos para a criação de novos probióticos, principalmente, devido a sua capacidade de regular as funções intestinais e por possuírem baixos efeitos colaterais. Com isso, tornam-se uma alternativa viável para auxiliar no tratamento e prevenção da patologia da gota e hiperuricemia.

Nessa revisão da literatura, os estudos selecionados apresentaram o desenvolvimento de possíveis novos probióticos constituídos por cepas de *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* e *Bacteroides fragilis*. É importante ressaltar que os resultados obtidos nesses estudos foram promissores, se mostrando mais vantajosos em comparação aos já encontrados na prática clínica.

Diante disso, espera-se que a microbiologia médica possa apresentar estratégias promissoras utilizando a microbiota intestinal para a identificação de espécies biomarcadoras e de bioprospecção de potenciais probióticos uricolíticos com baixos efeitos colaterais ou efeitos colaterais nulos para patologia da gota e hiperuricemia. Com isso, esses micro-organismos podem ser utilizados como futuros probióticos, sendo associados aos tratamentos farmacológicos já existentes funcionando como coadjuvantes.

REFERÊNCIAS

- ADOMOKO, E. A; MOE, O. W. *Uric acid transport, transporters, and their pharmacological targeting*. **Acta Physiologica**, v. 238, n. 2, p. 13980, abr., 2023. DOI: 10.1111/apha.13980. Acesso em: 09 set. 2023.
- AZEVEDO, V. F. *et al.* Revisão crítica do tratamento medicamentoso da gota no Brasil. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 57, n. 4, p. 346-355, mar., 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rbr.2016.06.009>.
- BARDIN, T; RICHETTE, P. Definition of hyperuricemia and gouty conditions. **Current Opinion**, v. 26, n. 2, mar. 2014.
- BENN, C. L. *et al.* *Physiology of Hyperuricemia and Urate-Lowering Treatments*. **Frontiers in Medicine**, v. 5, n. 160, mai., 2018. Disponível em: [Frontiers | Physiology of Hyperuricemia and Urate-Lowering Treatments \(frontiersin.org\)](https://frontiersin.org). Acesso em: 23 mar. 2023. DOI: 10.3389/fmed.2018.00160.
- BUNGAU, S. G. Targeting Probiotics in Rheumatoid Arthritis. **Nutrients**, v. 13, n. 3376, set. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13103376>.
- CHOI, H. K; MOUNT, D. B; REGINATO, A.M. *Pathogenesis of Gout*. **Annals Of Internal Medicine**, v. 143, n. 7, p. 499-516, out., 2005. Disponível em: [Pathogenesis of Gout | Annals Of Internal Medicine \(acpjournals.org\)](https://acpjournals.org). Acesso em: 12 mar. 2023.
- CHOI, W. J. *et al.* *The Independent Association of Serum Retinol and β -Carotene Levels with Hyperuricemia – A National Population Study*. **Arthritis Care Res.** v.64, n. 3, p. 389–396, mar., 2012. DOI: [10.1002/acr.20692](https://doi.org/10.1002/acr.20692).
- DANDAN-HILAL, R; BRUNTON, L. L. As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman & Gilman. 2.ed. Porto Alegre: AMGH, 2015.
- DIND, R-X, *et al.* Revisit gut microbiota and its impact on human health and disease. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 27, n. 3, p. 623-631, jul. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.012>.
- DOGHARAMJI, P. P; KOFFMAN, B. *Gout and Hyperuricemia: Perceptions And Realities*. **Post grad Med**, v.124. p. 98–109, 2012.
- DOGHARAMJI, P. P; WORTMANN, R. L. *Hyperuricemia and Gout: New Concepts in Diagnosis and Management*. **Postgraduate Medicine**, v. 124, n. 6, p. 98- 109, nov., 2012. DOI: [10.3810/pgm.2012.11.2616](https://doi.org/10.3810/pgm.2012.11.2616).
- FANG, X-Y. *et al.* *The Interaction Between Dietary Fructose and Gut Microbiota in Hyperuricemia and Gout*. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, n. 890730, jun. 2022. Disponível em: [Frontiers | The Interaction Between Dietary Fructose and Gut Microbiota in Hyperuricemia and Gout \(frontiersin.org\)](https://frontiersin.org). Acesso em: 23 abr. 2023. DOI: [10.3389/fnut.2022.890730](https://doi.org/10.3389/fnut.2022.890730).

FORD, E. S; CHOI, H. K. *Associations between concentrations of uric acid with concentrations of vitamin A and beta-carotene among adults in the United States*. **Nutrition research**, v. 33, n. 12, p. 995–1002, dez. 2013. DOI:10.1016/j.nutres.2013.08.008.

GOU, Z. *et al. Intestinal Microbiota Distinguish Gout Patients from Healthy Humans*. **Scientific Reports**, v. 6, n. 20602, fev. 2016. Disponível em: Intestinal Microbiota Distinguish Gout Patients from Healthy Humans | Scientific Reports (nature.com/scientificreports). Acesso em: 11 mar. 2023. DOI: 10.1038/srep20602.

JAMES, A. *et al. The Role of Probiotics in Purine Metabolism, Hyperuricemia and Gout: Mechanisms and Interventions*. **Food Reviews International**, v. 39, n.15, p 1- 17, apr., 2021. Disponível em: (PDF) The Role of Probiotics in Purine Metabolism, Hyperuricemia and Gout: Mechanisms and Interventions (researchgate.net). Acesso em: 07 abr. 2023. DOI: 10.1080/87559129.2021.1904412.

JOUSIMIES- SOMER, H; SUTTER, V. L. Wadsworth-KTL anaerobic bacteriology manual. Star Pub, v. 6, 2002

KELLY, V. M; KRISHNAN, E. *Febuxostat for the treatment of hyperuricemia in patients with gout*. **International Journal of Clinical Rheumatology**, v. 6, n. 5, p. 485-493, 2011.

KINGSBURY, S. R; CONAGHAN, P. G; MCDERMOTT, M. F. *The role of the NLRP3 inflammasome in gout*. **Journal of Inflammation Research**, v. 4, p. 39-49, 2011. DOI: 10.2147/JIR.S11330.

KONDRATIUK, et al. Impact of the Synbiotics and Urate-Lowering Therapy on Gut Microbiota and Cytokine Profile in Patients with Chronic Gouty Arthritis. **Journal of Medicine and Life**, v.13, n. 4, p. 490- 498, jul. 2020. DOI: 10.25122/jml-2020-0065

LIU, Y. *et al. Associations between serum vitamins and serum uric acid in the population of Shenyang, China*. **Journal of Nutritional Science and Vitaminology**, v. 67, p. 77-83, 2021.

MADHOGARIAA, B; BHOWMIK, P; KUNDUA, A. Correlation between human gut microbiome and diseases. **Infectious Medicine**, p. 180 -191, ago. 2022.

MARTINS, *et al.*, 2021. *Gout Storm*. **American Journal of Case Reports**, v. 22, p. e 932683, set. 2021. DOI: 10.12659/AJCR.932683.

PACHER, P; NIVOROZHKIN, A; SZABÓ, C. *Therapeutic Effects of Xanthine Oxidase Inhibitors: Renaissance Half a Century after the Discovery of Allopurinol*. **Pharmacol Reviews**, v. 58, n. 1, p 87-114, mar., 2006. DOI: 10.1124/pr.58.1.6.

PASCART, T; LIOTÉ, F. *Gout: state of the art after a decade of developments*. **Rheumatology**, v. 58, p 27-44, mar., 2018. DOI: 10.1093/rheumatology/key002.

SAPKOTA, et al., 2021. Dosage individualization proposed for anti gout medications among the patients with gout. *Plose One*, set., 2021. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257082>.

SCHLESINGER, N; DALBETH, N; PEREZ-RUIZ, F. *Gout – what are the treatment options?*. **Expert Opinion**, v.10, n. 8, p. 1319-1328, 2009.

SHAO, T. *et al. Combined Signature of the Fecal Microbiome and Metabolome in Patients with Gout*. **Frontiers in Microbiology**, v.8, n. 268, fev. 2017. Disponível em: Frontiers | Combined Signature of the Fecal Microbiome and Metabolome in Patients with Gout (frontiersin.org). Acesso em: 23 abr. 2023. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00268.

SUN, H-L. *et al. Function of Uric Acid Transporters and Their Inhibitors in Hyperuricemia*. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, jul., 2021. DOI: 10.3389/fphar.2021.667753.

TONG, S. *et al. The role of gut microbiota in gout: Is gut microbiota a potential target for gout treatment*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.12, n. 1051682, nov. 2022. DOI: 10.3389/fcimb.2022.1051682.

UL-HAQ, A. *et al. Characteristic alterations of gut microbiota in uncontrolled gout*. **Journal Of Microbiology**, v. 60, n. 12, p. 1178-1190, 2022. DOI: 10.1007/s12275-022-2416-1.

WANG, K. *et al. Gut Microbiota in NSAID Enteropathy: New Insights*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 11, n. 679396, jul. 2021. DOI: 10.3389/fcimb.2021.679396.

WANG, Z. *et al. Gut microbiota remodeling: A promising therapeutic strategy to confront hyperuricemia and gout*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.12, n. 935723, ago. 2022. Disponível em: Frontiers | Gut microbiota remodeling: A promising therapeutic strategy to confront hyperuricemia and gout (frontiersin.org). Acesso em: 26 de abr. 2023. DOI: 10.3389/fcimb.2022.935723.

WU, X; YOU, C. *The biomarkers discovery of hyperuricemia and gout: proteomics and metabolomics*. **PeerJ**, v. 11, p. e14554, jan., 2023. DOI: 10.7717/peerj.14554.

XU, X. *et al. Uric acid transporters hiding in the intestine*. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 12, p. 3151-3155, ago., 2016. Disponível em: Full article: Uric acid transporters hiding in the intestine (tandfonline.com). Acesso em: 10 mar. 2023. DOI: 10.1080/13880209.2016.1195847.

YUAN, X. *et al. Altered Gut Microbiota in Children With Hyperuricemia*. **Frontiers in Endocrinology**, v.13, n. 848715, abr., 2022. Disponível em: Frontiers | Altered Gut Microbiota in Children With Hyperuricemia (frontiersin.org). Acesso em: 23 mar. 2023. DOI: 10.3389/fendo.2022.848715.

ZHANG, C; LI, L; ZHANG, T; ZENG, C. *Recent advances in fructose intake and risk of hyperuricemia*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, V.11, n. 110795, set., 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110795>.

ZHAO, J. *et al. Inflammatory Response to Regulated Cell Death in Gout and Its Functional Implications*. **Frontiers in Immunology**, v. 3, n. 888306, abr., 2022. DOI: 10.3389/fimmu.2022.888306.