



Microbioma pulmonar: desafios de um novo paradigma

André Nathan Costa^{1,a}, Felipe Marques da Costa^{1,b}, Sílvia Vidal Campos^{1,c},
Roberta Karla Salles^{1,d}, Rodrigo Abensur Athanazio^{1,e}

1. Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração – InCor – Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

a. <http://orcid.org/0000-0000-0000-0000>

b. <http://orcid.org/0000-0001-5118-2033>

c. <http://orcid.org/0000-0003-3297-5948>

d. <http://orcid.org/0000-0003-3074-445X>

e. <http://orcid.org/0000-0002-9399-5275>

Recebido: 12 junho 2017.

Aprovado: 16 julho 2017.

Trabalho realizado na Divisão de Pneumologia, Instituto do Coração – InCor – Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo (SP) Brasil.

RESUMO

O estudo do microbioma humano — e, mais recentemente, o do sistema respiratório — através de sofisticadas técnicas de biologia molecular, desvendou a imensa diversidade de colonização microbiana nos seres humanos, sejam saudáveis, sejam portadores de diferentes doenças. Aparentemente, ao contrário do que se acreditava, existe uma colonização não patogênica dos pulmões por microrganismos, como bactérias, fungos e vírus. Esse microbioma pulmonar fisiológico apresenta uma densidade baixa de colônias, porém uma elevada diversidade; por outro lado, alguns estados patológicos levam a uma perda dessa diversidade, com aumento da concentração de alguns gêneros bacterianos em detrimento de outros. Ainda, além do conhecimento qualitativo das bactérias presentes no pulmão em diversos estados de saúde ou de doença, o conhecimento avança para o entendimento da interação que essa microbiota tem com o sistema imune local e sistêmico, modulando a resposta imunológica. Compreendendo essa intrínseca relação entre a microbiota e os pulmões, estudos apresentam novos conceitos sobre os mecanismos fisiopatogênicos da homeostase do sistema respiratório e a possível disbiose em estado de algumas doenças, como fibrose cística, DPOC, asma e doenças intersticiais. Essa quebra de paradigma do conhecimento da microbiota presente nos pulmões fez com que se torne premente entender melhor o papel do microbioma para identificar possíveis alvos terapêuticos e abordagens clínicas inovadoras. Através desse novo salto de conhecimento é que os resultados dos estudos preliminares poderão ser traduzidos em benefícios aos nossos pacientes.

Descritores: Microbiota; Microbiologia; Sistema imunológico.

INTRODUÇÃO

“Os pulmões de seres humanos saudáveis são locais estéreis, ao contrário das vias aéreas superiores onde existem microrganismos comensais — vivem em homeostase com o organismo humano”.⁽¹⁾ Apesar de o sistema respiratório ter uma superfície maior que 70 m² — o tamanho de uma quadra de tênis — e estar em contato direto com o meio ambiente, o conceito acima permeou o conhecimento sobre o sistema respiratório até o início do século XXI, quando os primeiros estudos baseados em técnicas de identificação molecular de DNA bacteriano revelaram a presença de material genético de microrganismos no trato respiratório inferior.^(1,2) Muito desse atraso no conhecimento da microbiota pulmonar se deve à dificuldade de se representar o habitat do pulmão humano através de técnicas de cultura convencional, baseadas no crescimento bacteriano de material colhido através do lavado broncoalveolar.^(2,3) Isso ocorre devido à menor carga bacteriana presente no pulmão quando comparada à em outros locais do corpo humano, como trato gastrointestinal e genitourinário. Além disso, sempre houve intenso debate sobre uma possível contaminação do material colhido das vias aéreas inferiores com microrganismos das vias aéreas superiores, o que excluiu o pulmão dos estudos iniciais que mapearam o microbioma humano.^(2,4-7)

Passados esses obstáculos iniciais no estudo do microbioma pulmonar, a ciência avança para o entendimento da interação que essa microbiota possui com o sistema imune local e sistêmico, modulando a resposta imunológica no contexto de saúde e também nas diferentes patologias respiratórias. A caracterização do microbioma pulmonar, assim, tem o potencial de prover novos conceitos sobre aspectos fisiopatogênicos da homeostase do sistema respiratório e a perda desse equilíbrio, conhecida por disbiose, em condições como fibrose cística (FC), DPOC, asma e doenças intersticiais.⁽⁸⁻¹¹⁾

Assim, é altamente provável que o microbioma e suas modificações tenham influência direta na história natural das doenças respiratórias, assim como certamente existe uma modificação na microbiota com o uso de antibióticos no tratamento de patologias infecciosas do trato respiratório. O aumento do conhecimento sobre o microbioma do pulmão colocou em pauta, ainda, uma discussão sobre uma possível distinção entre as espécies de bactérias que são patogênicas e outras que se comportam como comensais na composição do nosso microbioma fisiológico.⁽¹²⁻¹⁵⁾

Para melhor percorrer esse novo caminho que se abre à pneumologia, alguns conceitos são importantes. Microbiota, microbioma, metagenoma e RNAr 16S são termos que permeiam os estudos nessa área, e seu

Endereço para correspondência:

André Nathan Costa. Rua Dr. Enéas Carvalho de Aguiar, 44, CEP 05403-000, São Paulo, SP, Brasil.
Tel./Fax: 55 11 2661-5695. E-mail: nathan.andre@gmail.com
Apoio financeiro: Nenhum.

domínio facilita o entendimento dessa nova dimensão do conhecimento (Quadro 1). Em relação à técnica, a análise do microbioma bacteriano baseia-se na identificação e no sequenciamento de regiões variáveis do gene 16S que codifica o RNAr bacteriano. Visto que esse gene não está presente nos mamíferos, o viés de confusão com o DNA humano é inexistente.^(1,4,8) Finalmente, a sequência do DNA 16S contem nove regiões variáveis que podem ser identificadas por diferentes técnicas, sendo que o pirosequenciamento, o micro-ordenamento filogenético e o polimorfismo de comprimento de fragmento de restrição terminal são as mais comumente utilizadas.^(1,3,4) A Figura 1 resume a sequência de eventos que levam ao reconhecimento do microbioma de um determinado sítio.

Focando nas populações bacterianas presentes em indivíduos normais, embora os resultados de estudos publicados difiram um pouco entre si, Proteobacteria, Firmicutes, e Bacteroidetes são os filos genéticos bacterianos mais comumente identificados. Em relação ao gênero, predominam *Streptococcus*, *Prevotella*, *Fusobacteria* e *Veillonella*, e uma menor contribuição de potenciais patógenos, como *Haemophilus* e *Neisseria*. Entretanto, os estudos se baseiam em séries de casos com pequeno número de sujeitos saudáveis e de pouco centros ao redor do globo.^(2,3,16)

Tão importante quanto o conhecimento qualitativo das bactérias presentes no pulmão, a descrição da riqueza de organismos e a coexistência entre diferentes espécies é fundamental. Assim, o microbioma pulmonar saudável apresenta uma densidade baixa de colônias, porém uma elevada diversidade; por outro lado, alguns estados patológicos levam a uma perda dessa diversidade, com o aumento da concentração de alguns gêneros bacterianos em detrimento de outros.^(15,17,18) Isso poderia implicar o desenvolvimento de terapias específicas em detrimento de antibióticos de amplo espectro e com grande potencial de causar mais desequilíbrio em um microbioma já disbiótico.⁽¹⁹⁾ Ainda nessa linha de raciocínio, os macrolídeos, medicamentos tidos como imunomoduladores e utilizados por períodos prolongados em doenças tais como bronquiectasias, bronquiolite obliterante e DPOC, têm seus efeitos anti-inflamatórios revisitados, pois essas propriedades parecem estar relacionadas a

alterações da microbiota pulmonar e dos metabólitos microbianos, com subsequente modulação negativa da função macrofágica alveolar.⁽¹³⁾

Finalmente, ainda em relação à população microbiana residente no sistema respiratório, os estudos iniciais ainda têm negligenciado dois importantes componentes do ecossistema pulmonar: os vírus e os fungos. Assim, o microbioma e o viroma pulmonares, especialmente em algumas condições, como a FC e transplante de pulmão, parecem ter uma importância particular.⁽²⁰⁾ A identificação segue a mesma técnica da análise da

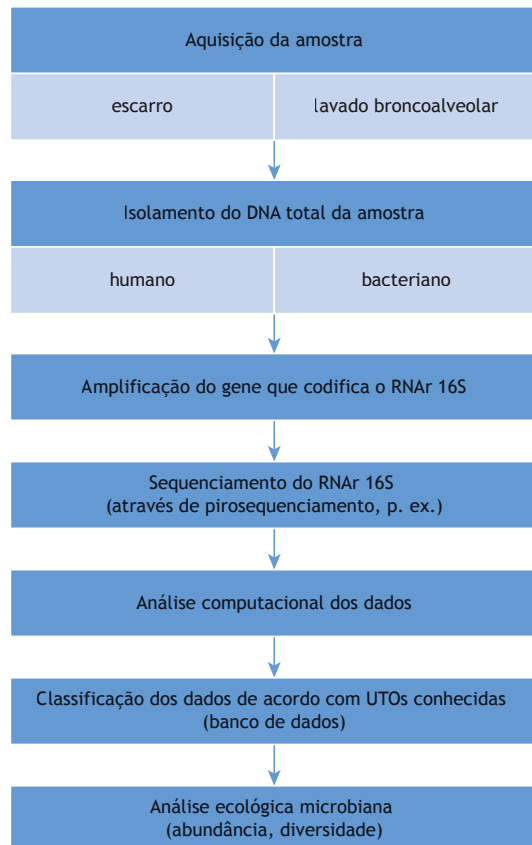


Figura 1. Sequência de eventos que levam ao reconhecimento do microbioma de um determinado sítio. UTO: unidade taxonômica operacional.

Quadro 1. Glossário de nomenclaturas e definições usadas na rotina de avaliação do microbioma humano.

Microbiota	Todos os microorganismos que se encontram numa determinada região ou habitat
Microbioma	O conjunto composto pelos microrganismos, seus genes e o ambiente/meio com o qual eles interagem
Metagenoma	A informação genética da microbiota, obtida através do sequenciamento genético que é analisado, organizado e identificado através de ferramentas computacionais, usando bases de dados de sequências previamente conhecidas
RNAr 16S	O componente da subunidade 30S dos procariontes. Codifica os genes DNA 16S, usados para obter dados filogenéticos
Unidade taxonômica operacional	A definição operacional de uma espécie ou grupo de espécies, usado quando apenas os dados de sequência de DNA estão disponíveis
Disbiose	O desequilíbrio na composição da microbiota de um determinado nicho relacionado a perturbações nas condições locais

microbiota bacteriana; porém, com reconhecimento do RNAr 18S, no caso dos fungos, e sequenciamento de ácidos nucleicos e PCR no caso dos vírus.⁽²¹⁾

MICROBIOMA PULMONAR E SUA RELAÇÃO COM O TRATO GASTROINTESTINAL

Por muito tempo, perdeu-se a teoria de que os seios da face eram os maiores determinantes das alterações microbiológicas encontradas no trato respiratório inferior. A glote, desta forma, era então considerada uma estrutura eficaz em proteger o pulmão do compartimento orofaringeal. Todavia, atualmente se reconhece que o microbioma do trato respiratório inferior assemelha-se ao da orofaringe, levando ao conceito de que a migração microbiana dessa região constitui-se no maior determinante do microbioma pulmonar em indivíduos saudáveis.⁽²²⁾ Dessa forma, a microaspiração parece desempenhar um papel fundamental na formação do microbioma pulmonar, apesar de outras bactérias presentes no trato respiratório inferior, como as dos gêneros *Prevotella*, *Veillonella* e *Streptococcus*, apresentarem sua origem influenciadas pela sua inalação através das vias aéreas superiores.^(23,24) A inter-relação desses sistemas, bem como os determinantes locais do microbioma pulmonar, são apresentados nas Figuras 2 e 3.

MICROBIOTA E MODULAÇÃO IMUNE

As interações comensais entre os micro-organismos e o homem ao longo da evolução, além da relevância do ecossistema luminal (trato geniturinário e trato gastrointestinal) na modulação imune, já se impõem como um novo paradigma. Esse ecossistema é separado do interior do hospedeiro por uma fina camada de células epiteliais que atua como interface entre hospedeiro e meio ambiente, e esse epitélio é equipado com cílios, microvilosidades, células produtoras de muco e junções intercelulares que permitem funções fisiológicas enquanto em contato com a microbiota.⁽²⁵⁾ Dessa forma, estudos com camundongos estéreis (*germ-free*) mostram que bactérias residentes influenciam diretamente o metabolismo epitelial, sua proliferação, *turnover* e função de barreira.⁽²⁵⁾ No sistema respiratório, os membros da microbiota, em associação com antígenos ambientais particulados não viáveis, são continuamente apresentados à mucosa e processados por células dendríticas e macrófagos, com subsequente formação de memória ou ativação de células efectoras T e B.⁽²⁵⁾ Além disso, estudos do trato gastrointestinal mostraram a capacidade do sistema imune de discriminar bactérias patogênicas daquelas comensais, através de receptores *Toll-like* presentes em linfócitos T, em um processo que permitiria a colonização simbiótica, ou seja, uma espécie de "acordo de paz" entre a microbiota residente e a mucosa respiratória,^(25,26) como exemplificado na Figura 4.

As evidências mostram, por outro lado, que uma regulação anormal dessa relação hospedeiro/microbiota desempenha um importante papel na fisiopatologia de

diversos distúrbios inflamatórios pulmonares. Assim, a caracterização da composição do microbioma das vias aéreas como marcador prognóstico ou como elemento orientador de terapêutica medicamentosa ganha interesse em diversas patologias pulmonares crônicas,⁽²⁷⁾ como descrito a seguir.

MICROBIOTA NAS DIFERENTES PATOLOGIAS PULMONARES

Asma

A asma é uma doença complexa, heterogênea e relacionada a fenômenos alérgicos que vem apresentando um aumento de sua prevalência nas últimas décadas. A teoria da higiene é uma das principais hipóteses que justificam esse achado.⁽²⁸⁾ A baixa exposição a infecções bacterianas durante a infância pode ser responsável pela modulação da resposta imune com maior ênfase da via alérgica Th2. Diante disso, um maior interesse em relação ao papel do microbioma pulmonar e gastrointestinal vem surgindo. Estudos experimentais com camundongos livres de bactérias demonstraram uma resposta Th2 exagerada quando estimulados com ovalbumina, evoluindo com maior eosinofilia nas vias aéreas, hiper-responsividade e hipersecreção mucoide. Quando aqueles animais foram postos para crescerem ao lado de camundongos com microbiota bacteriana habitual, ambos os grupos apresentaram a mesma intensidade de resposta Th2, indicando que o microbioma habitual funciona como um fator protetor para doenças alérgicas.⁽²⁹⁾

Uma vez que a colonização bacteriana de mucosas está relacionada ao desenvolvimento e à orquestração da resposta imunológica de indivíduos saudáveis, alterações em fases iniciais de vida dessa inter-relação podem contribuir para o desenvolvimento de doenças alérgicas na vida adulta.⁽³⁰⁾ Em um estudo comparando duas comunidades agrícolas com hábitos semelhantes, porém com prevalência distinta de asma e sensibilização alérgica, a presença de uma composição microbiana com maior produção de endotoxinas se relacionou com uma menor prevalência dos distúrbios alérgicos.⁽³¹⁾ Além disso, uma microbiota nasal com menor diversidade de espécies, sobretudo quando associada à presença de *Moraxella* spp., também esteve associada a uma maior prevalência de asma.⁽³²⁾

Em adultos, pacientes asmáticos apresentaram uma prevalência maior de organismos do filo Proteobacteria, como *Haemophilus influenzae*, quando comparados a controles saudáveis.^(33,34) Os estudos nessa área ainda são escassos e com um número pequeno de pacientes, gerando uma heterogeneidade de achados. Todavia, todos apontam para a presença de uma disbiose relacionada à microbiota pulmonar nos pacientes asmáticos, que pode ser influenciada tanto pela gravidade da doença como pelo uso de corticoide inalatório ou sistêmico.^(35,36)

DPOC

Os estudos comparando o microbioma de fumantes, ex-fumantes e indivíduos saudáveis ainda são escassos

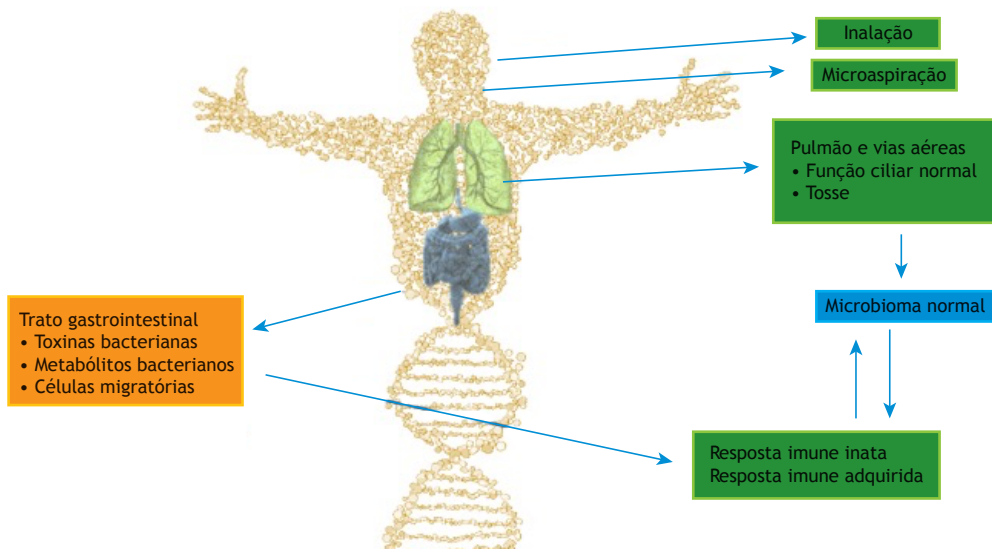


Figura 2. Fatores determinantes do microbioma pulmonar e eixo intestino-pulmão. A composição da microbiota humana é determinada pela associação de fatores ambientais, resposta imune do hospedeiro e características genéticas. A microbiota intestinal, de tamanho incomparavelmente maior que a pulmonar, pode influenciar o trato respiratório inferior tanto de forma direta, como através de microaspirações, como de forma indireta, através da modulação da resposta imune com a produção de metabólitos bacterianos e sua interação com as células inflamatórias do hospedeiro. A inalação de agentes externos também é uma via de colonização pulmonar e dependerá, assim como o trato intestinal, de fatores locais, como tensão de oxigênio, pH tecidual, perfusão sanguínea, concentração de nutrientes, adequado funcionamento do transporte mucociliar e desestruturação da arquitetura anatômica pulmonar.

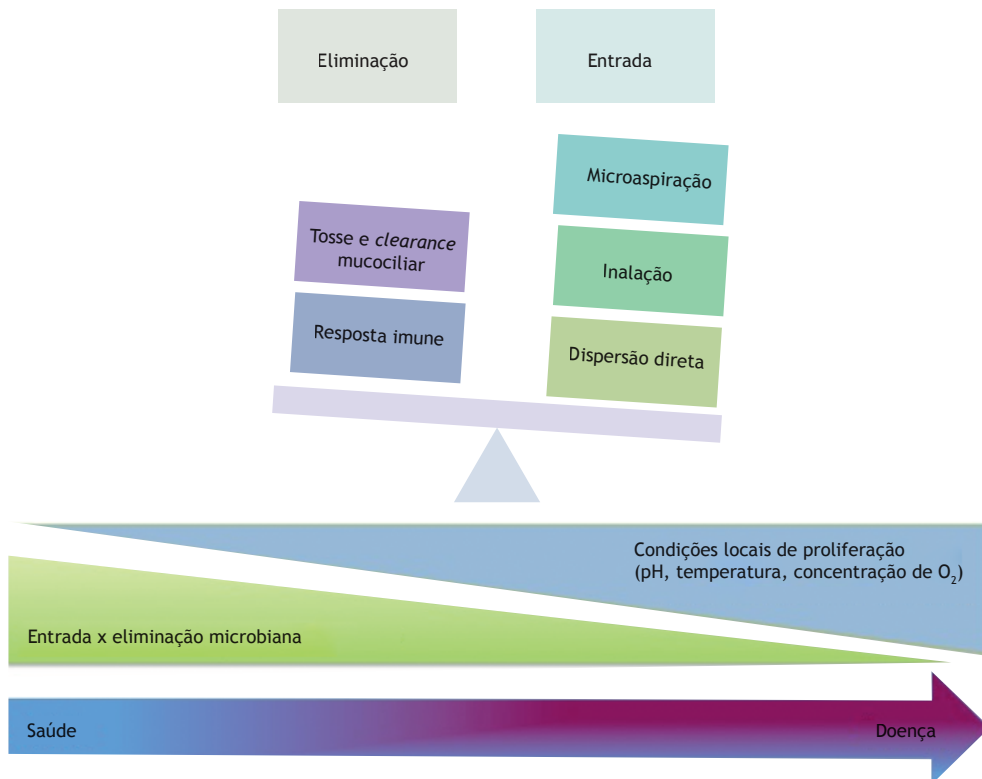


Figura 3. Fatores determinantes do microbioma do sistema respiratório: influxo, eliminação e proliferação microbianas. Em indivíduos saudáveis, o microbioma é determinado principalmente por entrada e eliminação. Em doenças pulmonares graves, as condições locais de crescimento são determinantes da sua composição.

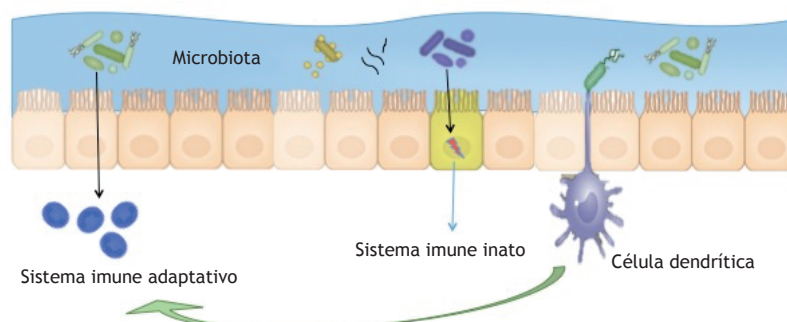


Figura 4. Interface da microbiota e interação com imunidade local. Membros da microbiota, em associação com antígenos ambientais particulados não viáveis, são continuamente amostrados pela mucosa e processados por células dendríticas e macrófagos, com subsequente formação de memória ou ativação de células efetoras T e B. Assim, diferentes microrganismos comensais influenciam a imunidade inata e adaptativa.

e com alguns resultados conflitantes em relação aos efeitos de longo prazo da exposição ao tabaco.^(37,38) Todavia, existem indícios de que ocorra disbiose em indivíduos tabagistas, com o aumento na prevalência do filo Firmicutes e de *Neisseria* spp. associado a uma redução relativa da abundância de Proteobacteria.⁽³⁷⁾ Por outro lado, diversos estudos com pacientes portadores de DPOC já revelaram um microbioma pulmonar claramente distinto em relação a controles saudáveis.⁽³⁹⁻⁴²⁾ Além disso, dentre os próprios pacientes com DPOC, a depender do local em que o material for coletado, também são encontradas diferenças na composição do microbioma, como quando comparados, por exemplo, escarro vs. lavado broncoalveolar.⁽⁴²⁾

Referente às exacerbações de DPOC, inúmeros estudos também já comprovaram que ocorre o aumento relativo na abundância de um determinado gênero em detrimento de outros.⁽⁴³⁻⁴⁵⁾ Essa alteração está relacionada a um estado pró-inflamatório e pode ser desencadeada, dentre outros motivos, por infecções virais⁽⁴³⁾ e interação na via aérea com fungos.⁽⁴⁶⁾ Esses achados reforçam o questionamento do papel dos antibióticos na exacerbação de DPOC, que podem ter um papel deletério no microbioma pulmonar pela redução da abundância bacteriana. Contudo, o uso de corticoide sistêmico não altera a diversidade microbiológica de forma significativa e, paralelamente, pode aumentar a abundância de determinados gêneros considerados como flora normal.⁽⁴⁴⁾

Bronquiectasias e FC

A colonização das vias aéreas nas doenças pulmonares supurativas — FC e bronquiectasias não FC — exerce um papel fundamental na evolução das suas manifestações clínico-radiológicas, e a compreensão do papel da microbiota é fundamental para o entendimento fisiopatológico dessas manifestações. Enquanto o conhecimento tradicional baseado em culturas mostra a importância de patógenos bem conhecidos, como *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Moraxella catarrhalis* em bronquiectasias não FC, além de *Staphylococcus aureus* e do complexo *Burkholderia*

cepacia em FC, estudos moleculares mostram que organismos não reconhecidos previamente estão presentes em abundância em alguns pacientes com doença supurativa.⁽²⁷⁾ São exemplos dessa colonização a presença de *Stenotrophomonas maltophilia* e *Achromobacter* spp., além de descrições de *Mycobacterium abscessus* e *Aspergillus fumigatus*.⁽¹⁰⁾

Estudos sobre microbioma em pacientes com FC demonstraram que amostras de pacientes mais jovens e saudáveis geralmente mostram comunidades bacterianas mais diversas, enquanto os explantos pulmonares de pacientes com doença pulmonar em estágio final revelam uma diversidade extremamente baixa, com apenas uma ou duas bactérias patogênicas detectáveis, como *P. aeruginosa* e *S. maltophilia*.⁽⁴⁷⁾ Assim, essa evolução microbiológica, no decorrer da vida de um paciente com FC, também vem acompanhada de uma redução na diversidade, maior abundância e maior similaridade filogenética entre as colônias de cada espécie.^(48,49)

Para as bronquiectasias não FC, a competição simultânea entre bactérias patogênicas e comensais por sobrevivência gera uma resposta imune inata do hospedeiro com a polarização da resposta de subtipos de células T, ativando ou perpetuando o processo inflamatório em vias aéreas terminais à semelhança do que ocorre no intestino em doenças inflamatórias crônicas, como a retocolite ulcerativa. Em relação às doenças inflamatórias intestinais, é interessante lembrar que há uma associação entre o surgimento de bronquiectasias após colectomia em casos de colite ulcerativa avançada, levantando a possibilidade de influência da microbiota intestinal sobre a pulmonar por imunorregulação sistêmica após a exclusão da barreira intestinal.⁽¹²⁾

Finalmente, nas doenças supurativas, é crucial a compreensão da microbiota patogênica e comensal para a diferenciação entre infecção e colonização, ou seja, equilíbrio/saúde vs. disbiose/doença. Vale lembrar também que, para esse grupo de pacientes, o estudo do microbioma fúngico e viral (micobioma e viroma) é fundamental, e foram poucos os estudos que

abordaram esses temas até o momento. A literatura ainda é carente de estudos clínicos controlados; em sua maioria, os trabalhos são descritivos ou de revisão.

Tuberculose pulmonar

O microbioma no contexto da tuberculose continua a ser uma área pouco estudada, apesar da pesada carga da doença em todo o mundo.⁽⁵⁰⁾ Muitos estudos existentes têm focado na microbiota fora do sistema respiratório, incluindo relatos de um aumento da presença de *Candida* spp. e uma perda de diversidade na microbiota intestinal como resultado do tratamento da tuberculose.^(51,52) Além disso, há pouca concordância entre esses inquéritos e análises do microbioma pulmonar na tuberculose. Cui et al.⁽⁵³⁾ relataram que os pulmões saudáveis e os infectados com *Mycobacterium tuberculosis* compartilhavam muitos microrganismos, incluindo aqueles pertencentes aos filos Bacteroidetes, Proteobacteria e Actinobacteria, com o predomínio de Firmicutes e Bacteroidetes. Por outro lado, Wu et al.⁽⁵⁴⁾ encontraram uma lista bem diferente de microrganismos associados à tuberculose, incluindo os dos gêneros *Streptococcus*, *Granulicatella* e *Pseudomonas*. Um aspecto interessante daquele estudo é a comparação entre a microbiota de pacientes com diagnóstico recente de tuberculose, de casos de recidiva e de casos de falha de tratamento. A proporção de *Pseudomonas/Mycobacterium* nos casos de recidiva foi maior do que nos de tuberculose recente, enquanto a proporção de *Treponema/Mycobacterium* nos casos de recidiva foi menor do que nos casos novos, indicando que a interrupção dessas bactérias pode ser um fator de risco de recorrência da tuberculose.⁽⁵⁴⁾ Esses dados sugerem que a presença de certas bactérias e a disbiose do pulmão podem estar associadas não apenas ao aparecimento da tuberculose, mas também a sua recorrência e falha do tratamento, indicando um possível papel da microbiota na patogênese e nos desfechos do tratamento da tuberculose.

Pneumopatias intersticiais

Ainda em 2008, Varney et al.⁽⁵⁵⁾ publicaram um ensaio clínico avaliando o impacto do uso de sulfametoxazol/trimetoprima em pacientes portadores de fibrose pulmonar idiopática (FPI). Demonstrou-se que o grupo que recebeu a antibioticoterapia apresentou melhora clínica e funcional,⁽⁵⁵⁾ e já se aventava a hipótese de um potencial efeito sobre a microbiota pulmonar. Mais recentemente, dados da coorte de um estudo que analisou 55 pacientes com FPI demonstraram haver uma relação entre o predomínio de bactérias específicas do gênero *Staphylococcus* e *Streptococcus* e exacerbação da pneumopatia intersticial.⁽⁵⁶⁾ Naquele mesmo ano, Molyneaux et al.⁽⁵⁷⁾ observaram um aumento na quantidade de bactérias no lavado broncoalveolar de portadores de FPI quando comparados a controles saudáveis, além de diferenças na composição e diversidade dessa microbiota, associando essa disbiose à progressão da doença parenquimatosa. Uma posterior análise genética desses pacientes revelou o aumento e a manutenção na expressão de

genes relacionados à resposta imune do hospedeiro, atuando como um estímulo agressor contínuo ao epitélio alveolar, além de se relacionar com ativação fibroblástica local,^(58,59) ulteriormente sugerindo uma relação entre microbioma e progressão da fibrose. A tentativa de reversão do processo de disbiose e, em última instância, a interrupção da agressão tecidual, é palco de intensa investigação no cenário das doenças intersticiais fibrosantes; porém, ainda é cedo para afirmar que a microbiota está diretamente relacionada à progressão da doença.⁽²⁷⁾

OUTRAS SITUAÇÕES CLÍNICAS EM PNEUMOLOGIA

Após os avanços iniciais no entendimento do microbioma do sistema respiratório em relação às patologias mais prevalentes, espera-se que tal entendimento revolucione os conceitos da patogênese em diversas situações clínicas. Em relação a ventilação mecânica e pneumonia associada à ventilação mecânica (PAVM), isso não é diferente. Um estudo recente com 35 pacientes sugeriu que a ventilação mecânica por si só está mais associada a uma mudança na microbiota pulmonar que o uso de antibióticos sistêmicos e que a disbiose do sistema respiratório é mais intensa nos pacientes que desenvolveram PAVM do que naqueles que não a desenvolveram.⁽⁶⁰⁾ Ainda em relação à PAVM, a análise do microbioma pode também auxiliar no diagnóstico etiológico e na diferenciação entre pneumonia e colonização por um patógeno potencial.⁽⁶¹⁾

O transplante pulmonar é outra área em ebulição. O sistema respiratório dos pacientes transplantados é um nicho de especial interesse, haja vista o amplo uso de antibióticos profiláticos e de drogas imunossupressoras utilizados nessa população. A microbiota do pulmão transplantado parece ser diferente dos pulmões saudáveis, principalmente devido à presença da família Burkholderiaceae.⁽⁶²⁾ Além disso, a mudança da microbiota parece influenciar no desenvolvimento de disfunção crônica do enxerto.⁽⁶³⁾ Um estudo com 203 lavados broncoalveolares de 112 pacientes transplantados revelou que algumas bactérias exerciam um papel pró-inflamatório (gêneros *Staphylococcus* e *Pseudomonas*) e que outras exerciam um papel de menor estimulação do sistema imune (gêneros *Prevotella* e *Streptococcus*).⁽⁶⁴⁾ Uma disbiose nesses indivíduos parece ter relação com perfis diferentes de inflamação e orquestração dos macrófagos pulmonares, contribuindo na gênese da disfunção crônica. Essa interação entre comunidades bacterianas e a resposta imune inata oferece novas vias de intervenção na prevenção da disfunção crônica do enxerto.

A oncologia clínica também avança no conhecimento das correlações entre microrganismos e neoplasias de pulmão. Após a descrição de marcadores moleculares, como EGFR, proteína de morte celular programada 1 e quinase do linfoma anaplásico, que customizaram a abordagem terapêutica, é a vez de o microbioma apresentar-se como um possível marcador de doença e, quiçá, um alvo terapêutico. Alguns microrganismos

já apresentam uma relação direta com neoplasias em outros órgãos, como *Helicobacter pylori* no câncer de estômago e HPV no câncer de colo de útero. Doenças periodontais podem se associar a câncer de pulmão, sugerindo uma associação do microbioma oral com o risco de carcinoma pulmonar.⁽⁶⁵⁾ Corroborando essas hipóteses, Vogtmann et al. descreveram, em mulheres não tabagistas, que casos de câncer de pulmão tiveram uma diminuição da abundância relativa de organismos dos filos Spirochaetae e Bacteroidetes e uma maior abundância relativa dos de Firmicutes em análises da microbiota oral.⁽⁶⁶⁾ Finalmente, um estudo comparando o lavado broncoalveolar de pacientes com neoplasias e tumores benignos encontrou como preditores de câncer de pulmão os gêneros *Veillonella* e *Megasphaera*, sugerindo uma associação entre microbiota pulmonar alterada e presença de neoplasia.⁽⁶⁷⁾

CETICISMO NA ANÁLISE

Apesar de excitante, o estudo do microbioma deve ser visto com alguma cautela, e já se afirmou que o seu maior risco é se afogar no próprio *tsunami* de informações.⁽⁶⁸⁾ Existe um risco de ser feita uma série de associações especulativas entre a microbiota e estados de saúde e doença, e essas conexões se mostram espúrias ou muito mais complexas do que mostram as avaliações iniciais.

Estariam as comunidades microbianas alteradas nos pulmões por causa das doenças respiratórias,

ou os pulmões estão doentes por causa da disbiose entre esses microrganismos? O sistema imune e o microbioma estão tão intimamente interligados que essa diferenciação é extremamente difícil. A maioria dos estudos nesse tema ainda são descritivos e, apesar de repletos de correlações provocativas, ainda não elucidam a causalidade entre a modulação das patologias do sistema respiratório e a microbiota residente, nem determinam temporalmente o que se inicia primeiro: a disbiose ou a doença pulmonar.⁽⁶⁹⁾ Essas são algumas das questões que se colocam prementes ao se delinearem novos estudos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estamos entrando em uma nova era no entendimento das doenças pulmonares do ponto de vista da interação das comunidades bacterianas e seus metabólitos com os mecanismos imunológicos e funcionais das diferentes patologias do sistema respiratório. Nesse contexto, frente à quebra do paradigma do conhecimento da microbiota presente nos pulmões, faz-se premente entender melhor sua interação com o indivíduo para que, dessa forma, sejamos capazes de avançar no entendimento dos processos fisiopatológicos das doenças respiratórias, assim como identificar possíveis alvos terapêuticos e abordagens clínicas inovadoras nessas patologias. A translação dessas informações para a prática assistencial, sem dúvida, será o maior desafio no estudo do microbioma e de suas potencialidades.

REFERÊNCIAS

1. Beck JM. ABCs of the lung microbiome. *Ann Am Thorac Soc*. 2014;11 Suppl 1:S3-6. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201306-188MG>
2. Marsland BJ, Gollwitzer ES. Host-microorganism interactions in lung diseases. *Nat Rev Immunol*. 2014;14(12):827-35. <https://doi.org/10.1038/nri3769>
3. Rogers GB, Shaw D, Marsh RL, Carroll MP, Serisier DJ, Bruce KD. Respiratory microbiota: addressing clinical questions, informing clinical practice. *Thorax*. 2015;70(11):74-81. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2014-205826>
4. Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012;486(7402):207-14. <https://doi.org/10.1038/nature11234>
5. Li K, Bihan M, Yooshef S, Methé BA. Analyses of the microbial diversity across the human microbiome. *PLoS One*. 2012;7(6):e32118. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032118>
6. Huang YJ, Charlson ES, Collman RG, Colombini-Hatch S, Martinez FD, Senior RM. The role of the lung microbiome in health and disease: A national Heart, Lung, and Blood Institute workshop report. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(12):1382-7. <https://doi.org/10.1164/rccm.201303-0488WS>
7. Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*. 2016;352(6285):539-44. <https://doi.org/10.1126/science.aad9378>
8. Jiao X, Zheng X, Ma L, Kutyk G, Gogineni E, Sun Q, et al. A Benchmark Study on Error Assessment and Quality Control of CCS Reads Derived from the PacBio RS. *J Data Mining Genomics Proteomics*. 2013;4(3). pii: 16008. <https://doi.org/10.4172/2153-0602.1000136>
9. Mammen MJ, Sethi S. COPD and the microbiome. *Respirology*. 2016;21(4):590-9. <https://doi.org/10.1111/resp.12732>
10. Surette MG. The cystic fibrosis lung microbiome. *Ann Am Thorac Soc*. 2014;11 Suppl 1:S61-5. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201306-159MG>
11. Han MK, Zhou Y, Murray S, Tayob N, Lama VN, Moore BB, et al. Lung microbiome and disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis: an analysis of the COMET study. *Lancet Respir Med*. 2014;2(7):548-56. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(14\)70069-4](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(14)70069-4)
12. Boyton RJ, Reynolds CJ, Quigley KJ, Altmann DM. Immune mechanisms and the impact of the disrupted lung microbiome in chronic bacterial lung infection and bronchiectasis. *Clin Exp Immunol*. 2013;171(2):117-23. <https://doi.org/10.1111/cei.12003>
13. Segal LN, Clemente JC, Wu BG, Wikoff WR, Gao Z, Li Y, et al. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial with azithromycin selects for anti-inflammatory microbial metabolites in the emphysematous lung. *Thorax*. 2017;72(1):13-22. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2016-208599>
14. Sze MA, Dimitriu PA, Suzuki M, McDonough JE, Campbell JD, Brothers JF, et al. Host response to the lung microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192(4):438-45. <https://doi.org/10.1164/rccm.201502-0223OC>
15. Wang Z, Bafadhel M, Halder K, Spivak A, Mayhew D, Miller BE, et al. Lung microbiome dynamics in COPD exacerbations. *Eur Respir J*. 2016;47(4):1082-92. <https://doi.org/10.1183/13993003.01406-2015>
16. Chotirmall SH, Gellatly SL, Budden KF, Mac Aogain M, Shukla SD, Wood DL, et al. Microbiomes in respiratory health and disease: An Asia-Pacific perspective. *Respirology*. 2017;22(2):240-250. <https://doi.org/10.1111/resp.12971>
17. Scales DC. The Implications of a Tracheostomy for Discharge Destination. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192(4):404-5. <https://doi.org/10.1164/rccm.201505-1007ED>
18. von Mutius E. Environmental microorganisms and lung health. *Ann Am Thorac Soc*. 2014;11 Suppl 1:S13-5. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201306-155MG>
19. Blaser MJ. Antibiotic use and its consequences for the normal microbiome. *Science*. 2016;352(6285):544-5. <https://doi.org/10.1126/science.aad9358>
20. Underhill DM, Iliev ID. The mycobiota: interactions between commensal fungi and the host immune system. *Nat Rev Immunol*.

- 2014;14(6):405-16. <https://doi.org/10.1038/nri3684>
21. Mitchell AB, Oliver BG, Glanville AR. Translational Aspects of the Human Respiratory Virome. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;194(12):1458-1464. <https://doi.org/10.1164/rccm.201606-1278CI>
 22. Bassis CM, Erb-Downward JR, Dickson RP, Freeman CM, Schmidt TM, Young VB, et al. Analysis of the upper respiratory tract microbiotas as the source of the lung and gastric microbiotas in healthy individuals. *MBio*. 2015;6(2):e00037. <https://doi.org/10.1128/mBio.00037-15>
 23. Venkataraman A, Bassis CM, Beck JM, Young VB, Curtis JL, Huffnagle GB, et al. Application of a neutral community model to assess structuring of the human lung microbiome. *MBio*. 2015;6(1). pii: e02284-14. <https://doi.org/10.1128/mBio.02284-14>
 24. Dickson RP, Erb-Downward JR, Huffnagle GB. Homeostasis and its Disruption in the Lung Microbiome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2015;309(10):L1047-55. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00279.2015>
 25. Neish AS. Mucosal immunity and the microbiome. *Ann Am Thorac Soc*. 2014;11 Suppl 1:S28-32. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201306-161MG>
 26. Round JL, Lee SM, Li J, Tran G, Jabri B, Chatila TA, et al. The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota. *Science*. 2011;332(6032):974-7. <https://doi.org/10.1126/science.1206095>
 27. Faner R, Sibila O, Agustí A, Bernasconi E, Chalmers JD, Huffnagle GB, et al. The microbiome in respiratory medicine: current challenges and future perspectives. *Eur Respir J*. 2017;49(4). pii: 1602086. <https://doi.org/10.1183/13993003.02086-2016>
 28. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*. 1989;299(6710):1259-60. <https://doi.org/10.1136/bmj.299.6710.1259>
 29. Herbst T, Sichelstiel A, Schär C, Yadava K, Bürki K, Cahenzli J, et al. Dysregulation of allergic airway inflammation in the absence of microbial colonization. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184(2):198-205. <https://doi.org/10.1164/rccm.201010-1574OC>
 30. Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*. 2016;352(6285):539-44. <https://doi.org/10.1126/science.aad9378>
 31. Stein MM, Hrusch CL, Gozdz J, Igartua C, Pivniouk V, Murray SE, et al. Innate Immunity and Asthma Risk in Amish and Hutterite Farm Children. *N Engl J Med*. 2016;375(5):411-421. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1508749>
 32. Depner M, Ege MJ, Cox MJ, Dwyer S, Walker AW, Birzele LT, et al. Bacterial microbiota of the upper respiratory tract and childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;139(3):826-834.e13. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.05.050>
 33. Hilty M, Burke C, Pedro H, Cardenas P, Bush A, Bossley C, et al. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One*. 2010;5(1):e8578. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008578>
 34. Huang YJ, Nelson CE, Brodie EL, Desantis TZ, Baek MS, Liu J, et al. Airway microbiota and bronchial hyperresponsiveness in patients with suboptimally controlled asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(2):372-381.e1-3.
 35. Denner DR, Sangwan N, Becker JB, Hogarth DK, Oldham J, Castillo J, et al. Corticosteroid therapy and airflow obstruction influence the bronchial microbiome, which is distinct from that of bronchoalveolar lavage in asthmatic airways. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(5):1398-1405.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.10.017>
 36. Durack J, Lynch SV, Nariya S, Bhakta NR, Beigelman A, Castro M, et al. Features of the bronchial bacterial microbiome associated with atopy, asthma, and responsiveness to inhaled corticosteroid treatment. *J Allergy Clin Immunol*. 2017;140(1):63-75. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.08.055>
 37. Morris A, Beck JM, Schloss PD, Campbell TB, Crothers K, Curtis JL, et al. Comparison of the respiratory microbiome in healthy nonsmokers and smokers. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(10):1067-75. <https://doi.org/10.1164/rccm.201210-1913OC>
 38. Munck C, Helby J, Westergaard CG, Porsbjerg C, Backer V, Hansen LH. Smoking Cessation and the Microbiome in Induced Sputum Samples from Cigarette Smoking Asthma Patients. *PLoS One*. 2016;11(7):e0158622. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158622>
 39. Sze MA, Dimitriu PA, Hayashi S, Elliott WM, McDonough JE, Gosselink JV, et al. The lung tissue microbiome in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;185(10):1073-80. <https://doi.org/10.1164/rccm.201111-2075OC>
 40. Pragman AA, Kim HB, Reilly CS, Wendt C, Isaacson RE. The lung microbiome in moderate and severe chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One*. 2012;7(10):e47305. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047305>
 41. Millares L, Ferrari R, Gallego M, Garcia-Núñez M, Pérez-Brocal V, Espasa M, et al. Bronchial microbiome of severe COPD patients colonised by *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33(7):1101-11. <https://doi.org/10.1007/s10096-013-2044-0>
 42. Cabrera-Rubio R, Garcia-Núñez M, Setó L, Antó JM, Moya A, Monsó E, et al. Microbiome diversity in the bronchial tracts of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Microbiol*. 2012;50(11):3562-8. <https://doi.org/10.1128/JCM.00767-12>
 43. Molyneaux PL, Mallia P, Cox MJ, Footitt J, Willis-Owen SA, Homola D, et al. Outgrowth of the bacterial airway microbiome after rhinovirus exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(10):1224-31. <https://doi.org/10.1164/rccm.201302-0341OC>
 44. Dy R, Sethi S. The lung microbiome and exacerbations of COPD. *Curr Opin Pulm Med*. 2016;22(3):196-202. <https://doi.org/10.1097/MCP.0000000000000268>
 45. Huang YJ, Sethi S, Murphy T, Nariya S, Boushey HA, Lynch SV. Airway microbiome dynamics in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Microbiol*. 2014;52(8):2813-23. <https://doi.org/10.1128/JCM.00035-14>
 46. Huffnagle GB, Noverr MC. The emerging world of the fungal microbiome. *Trends Microbiol*. 2013;21(7):334-41. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2013.04.002>
 47. Cox MJ, Allgaier M, Taylor B, Baek MS, Huang YJ, Daly RA, et al. Airway microbiota and pathogen abundance in age-stratified cystic fibrosis patients. *PLoS One*. 2010;5(6):e11044. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011044>
 48. Rudkjøbing VB, Thomsen TR, Alhede M, Kragh KN, Nielsen PH, Johansen UR, et al. The microorganisms in chronically infected end-stage and non-end-stage cystic fibrosis patients. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2012;65(2):236-44. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2011.00925.x>
 49. Frayman KB, Armstrong DS, Carzino R, Ferkol TW, Grimwood K, Storch GA, et al. The lower airway microbiota in early cystic fibrosis lung disease: a longitudinal analysis. *Thorax*. 2017;72(12):1104-1112. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2016-209279>
 50. Adami AJ, Cervantes JL. The microbiome at the pulmonary alveolar niche and its role in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Tuberculosis (Edinb)*. 2015;95(6):651-658. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2015.07.004>
 51. Querido SM, Back-Brito GN, Dos Santos SS, Leão MV, Kogalito CY, Jorge AO. Opportunistic microorganisms in patients undergoing antibiotic therapy for pulmonary tuberculosis. *Brazilian J Microbiol*. 2011;42(4):1321-8. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000400012>
 52. Dubourg G, Lagier JC, Armougom F, Robert C, Hamad I, Brouqui P, et al. The gut microbiota of a patient with resistant tuberculosis is more comprehensively studied by culturomics than by metagenomics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013;32(5):637-45. <https://doi.org/10.1007/s10096-012-1787-3>
 53. Cui Z, Zhou Y, Li H, Zhang Y, Zhang S, Tang S, et al. Complex sputum microbial composition in patients with pulmonary tuberculosis. *BMC Microbiol*. 2012;12:276. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-12-276>
 54. Wu J, Liu W, He L, Huang F, Chen J, Cui P, et al. Sputum microbiota associated with new, recurrent and treatment failure tuberculosis. *PLoS One*. 2013;8(12):e83445. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083445>
 55. Varney VA, Parnell HM, Salisbury D., Ratnatheepan S, Tayar RB. A double blind randomised placebo controlled pilot study of oral cotrimoxazole in advanced fibrotic lung disease. *Pulm Pharmacol Ther*. 2008;21(1):178-87. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2007.02.001>
 56. Han ML, Zhou Y, Murray S, Tayob N, Noth I, Lama VN, et al. Lung microbiome and disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis: an analysis of the COMET study. *Lancet Respir Med*. 2014;2(7):548-56. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(14\)70069-4](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(14)70069-4)
 57. Molyneaux PL, Cox MJ, Willis-Owen SA, Mallia P, Russell KE, Russell AM, et al. The role of bacteria in the pathogenesis and progression of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190(8):906-13. <https://doi.org/10.1164/rccm.201403-0541OC>
 58. Huang Y, Ma SF, Espindola MS, Vij R, Oldham JM, Huffnagle GB,

- et al. Microbes Are Associated with Host Innate Immune Response in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017;196(2):208-219. <https://doi.org/10.1164/rccm.201607-1525OC>
59. Molyneaux PL, Willis Owen SAG, Cox MJ, James P, Cowman S, Loebinger M, et al. Host-Microbial Interactions in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2017;195(12):1640-1650. <https://doi.org/10.1164/rccm.201607-1408OC>
 60. Zakharkina T, Martin-Loeches I, Matamoros S, Povoas P, Torres A, Kastelijin JB, et al. The dynamics of the pulmonary microbiome during mechanical ventilation in the intensive care unit and the association with occurrence of pneumonia. *Thorax.* 2017;72(9):803-810. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2016-209158>
 61. Yin Y, Hountras P, Wunderink RG. The microbiome in mechanically ventilated patients. *Curr Opin Infect Dis.* 2017;30(2):208-213. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000352>
 62. Borewicz K, Pragman AA, Kim HB, Hertz M, Wendt C, Isaacson RE. Longitudinal analysis of the lung microbiome in lung transplantation. *FEMS Microbiol Lett.* 2013;339(1):57-65. <https://doi.org/10.1111/1574-6968.12053>
 63. Willner DL, Hugenholtz P, Yerkovich ST, Tan ME, Daly JN, Lachner N, et al. Reestablishment of recipient-associated microbiota in the lung allograft is linked to reduced risk of bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187(6):640-7. <https://doi.org/10.1164/rccm.201209-1680OC>
 64. Bernasconi E, Pattaroni C, Koutsokera A, Pison C, Kessler R, Benden C, et al. Airway microbiota determines innate cell inflammatory or tissue remodeling profiles in lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016;194(10):1252-1263. <https://doi.org/10.1164/rccm.201512-2424OC>
 65. Meyer MS, Josphira K, Giovannucci E, Michaud DS. A review of the relationship between tooth loss, periodontal disease, and cancer. *Cancer Causes Control.* 2008;19(9):895-907. <https://doi.org/10.1007/s10552-008-9163-4>
 66. Vogtmann E, Goedert JJ. Epidemiologic studies of the human microbiome and cancer. *Br J Cancer.* 2016;114(3):237-42. <https://doi.org/10.1038/bjc.2015.465>
 67. Lee SH, Sung JY, Yong D, Chun J, Kim SY, Song JH, et al. Characterization of microbiome in bronchoalveolar lavage fluid of patients with lung cancer comparing with benign mass like lesions. *Lung Cancer.* 2016;102:89-95. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2016.10.016>
 68. Hanage WP. Microbiome science needs a healthy dose of skepticism. *Nature [Internet].* 2014;512(7514):247-8. <https://doi.org/10.1038/512247a>
 69. Dickson RP, Morris A. Macrolides, inflammation and the lung microbiome: untangling the web of causality. *Thorax.* 2017;72(1):10-12. <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2016-209180>