



Raquel Araújo Soares

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Influência da Microbiota Intestinal nas Perturbações do Espectro do Autismo” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Marta Pinto e da Professora Doutora Teresa Dinis e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Raquel Araújo Soares

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Influência da Microbiota Intestinal nas Perturbações do Espectro do Autismo” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Marta Pinto e da Professora Doutora Teresa Dinis e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Julho 2017



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Raquel Araújo Soares, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014183743, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Influência da microbiota intestinal nas perturbações do espectro do autismo” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 17 de julho de 2017.



(Raquel Araújo Soares)

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço aos meus pais e irmão por todo o apoio, amor e compreensão que sempre me demonstraram durante o meu percurso académico e que contribuíram para a realização deste meu sonho.

A todos os meus amigos que me acompanharam nesta etapa importante e que sempre me incentivaram a nunca desistir.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, que durante estes anos, me permitiu um ótimo percurso académico contribuindo com os melhores docentes.

À Professora Doutora Teresa do Carmo Pimenta Dinis Silva, pela constante disponibilidade, dedicação, paciência e apoio prestado na orientação da elaboração desta monografia.

E por último, mas não menos importante, um obrigada muito especial a toda a equipa da Farmácia do Calendário que me proporcionou o melhor estágio possível, que sempre me apoiaram e contribuíram para que me tornasse uma ótima profissional.

Índice

Capítulo I – Relatório de Estágio

Lista de Abreviaturas	7
1. Introdução	8
2. Análise SWOT	8
2.1. Análise Interna	10
2.1.1. Pontos Fortes	10
2.1.2. Pontos Fracos	13
2.2. Análise Externa	14
2.2.1. Oportunidades	14
2.2.2. Ameaças	15
3. Casos Práticos	17
3.1. Caso 1	17
3.2. Caso 2	17
3.3. Caso 3	18
4. Conclusão	19
5. Bibliografia	20

Capítulo II – Monografia

Lista de Abreviaturas	22
Resumo	23
Abstract	24
1. Introdução	25
2. Microbiota intestinal	26
3. Relação microbiota-intestino-cérebro	29
3.1. Vias de comunicação	31
3.1.1. Via neural	31
3.1.2. Via endócrina	31
3.1.3. Via imunológica	32
3.1.4. Via metabólica	32
4. Microrganismos e a função cerebral	33

4.1. Doenças do sistema nervoso central e a microbiota intestinal	34
4.1.1. Doenças do desenvolvimento neurológico	35
5. Tratamentos	40
5.1. Dieta	40
5.2. Probióticos/Simbióticos	41
5.3. Antibióticos	41
5.4. Posbióticos	42
5.5. Transplante fecal de microbiota	42
5.6. Carvão ativado	43
6. Conclusão	45
Bibliografia	46

Capítulo I – Relatório de Estágio

Lista de Abreviaturas

DCI – Denominação comum internacional

FC – Farmácia Comunitária

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SWOT – *Strengths, Weakness, Opportunities, Threats*

I. Introdução

Após 5 anos de formação no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), eis que surge a etapa final do curso, o estágio em Farmácia Comunitária. Os conhecimentos adquiridos são postos à prova num contexto prático, desempenhando o nosso papel como farmacêuticos.

A Farmácia Comunitária (FC) é um lugar de excelência, onde a promoção da saúde pública e do uso racional dos medicamentos são preponderantes sendo, muitas vezes, o primeiro local onde a população recorre em caso de doença ou em caso de aconselhamento farmacêutico.

O farmacêutico deve colaborar com todos os profissionais de saúde, promovendo junto deles e do doente a utilização segura, eficaz e racional dos medicamentos, assegurar que transmite a informação correta sobre a utilização dos medicamentos, no momento da dispensa e, verificar a segurança do medicamento, relativamente à dose da substância ativa e à existência de interações que ponham em causa a ação do medicamento ou a segurança do doente.

Realizei o meu estágio na Farmácia do Calendário, em Vila Nova de Famalicão, que tem a Direção Técnica da Dr.^a Alexandra Esteves, por um período de 5 meses.

Este relatório de estágio é redigido sob forma de análise SWOT (*Strengths, Weakness, Opportunities, Threats*), recorrendo deste modo aos pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças, para expor o trabalho que realizei no estágio curricular.

2. Análise SWOT

Uma análise SWOT consiste na identificação de pontos fortes (*Strengths*), pontos fracos (*Weaknesses*), oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*).

Irei efetuar primeiramente uma análise interna, que engloba os pontos fortes e pontos fracos, onde refiro o que de positivo e negativo encontrei durante o meu estágio. Esses pontos fortes contribuíram para que eu adquirisse capacidade e autonomia de realizar essas tarefas durante o estágio, ao mesmo tempo que se transformaram em competências base e específicas, indispensáveis para trabalhar futuramente numa farmácia. Os pontos fracos

referem-se às situações menos boas que ocorreram durante o estágio curricular mas que, com a ajuda de todos, foram facilmente ultrapassados.

De seguida, irei efetuar uma análise externa. Esta engloba as oportunidades que me foram dadas durante o estágio curricular, as quais me levaram a desenvolver competências centradas na sociedade, na educação para a saúde e no desempenho do meu papel enquanto farmacêutica, e as ameaças, que representam os obstáculos que enfrentei durante este período.

Tabela 1. Análise interna: apresentação dos pontos fortes e pontos fracos do meu estágio curricular.

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Equipa ❖ Receção de encomendas, armazenamento e gestão do <i>stock</i> ❖ Sistema informático ❖ Relação de proximidade utente/farmacêutico ❖ Período do estágio 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Limitação de conhecimentos na área da dermocosmética, puericultura e veterinária ❖ Manipulados ❖ Insegurança no aconselhamento farmacêutico

Tabela 2. Análise externa: apresentação das oportunidades e das ameaças do meu estágio curricular.

Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Formações ❖ Contacto com outros profissionais de saúde ❖ Atendimento de forma autónoma 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Publicidade ❖ Medicamentos esgotados ❖ Receitas manuais ❖ Dificuldade em associar a substância ativa ao seu nome comercial

2.1. Análise interna

2.1.1. Pontos fortes

❖ Equipa

A equipa da Farmácia do Calendário é constituída por ótimos profissionais de saúde. Tem a vantagem de ser jovem, dinâmica, divertida, responsável e dotada de um grande espírito de entreajuda. Apesar de ser uma farmácia com uma enorme afluência de utentes, sempre demonstraram uma enorme preocupação em ensinar-me e em esclarecer todas as minhas dúvidas, dando-me uma oportunidade de aprender as mais variadas tarefas e proporcionando-me o melhor ambiente possível para a minha aprendizagem e desenvolvimento de competências.

Proporcionam aos utentes um atendimento de elevada qualidade, tendo sempre em conta os valores e a ética profissional, a saúde e o bem-estar físico e mental do utente e o uso racional dos medicamentos.

Como estagiária, aprendi que a equipa de trabalho é fundamental e que o seu sucesso passa pela constante capacidade de adaptação, de organização e de respeito entre os profissionais.

❖ Receção de encomendas, armazenamento e gestão do *stock*

O estágio em farmácia comunitária inicia-se com um trabalho de *BackOffice* que engloba tarefas de extrema importância para o bom funcionamento da farmácia. Comecei o estágio por aprender todos os aspetos referentes à organização e gestão de *stock* iniciando com a receção de encomendas e posterior armazenamento e gestão dos produtos.

Existem as encomendas diárias e as manuais. As diárias são realizadas pelo sistema que, sempre que um produto atinge o seu *stock* mínimo, origina uma “proposta de encomenda”, que é verificada e alterada por um membro responsável, sendo por fim enviado para o fornecedor. O segundo tipo são as encomendas realizadas através de chamada telefónica ou do sistema informático no decorrer do atendimento aos utentes quando há a falta do medicamento na farmácia. Estas encomendas são consideradas pontuais e urgentes.

Com esta primeira tarefa que realizei, permitiu-me uma primeira abordagem acerca do sistema informático, dos medicamentos, dos preços e da importância de uma correta receção de encomendas.

Após dar entrada á encomenda procedia ao seu armazenamento. Uma adequada organização do espaço de armazenamento é fulcral. Nas primeiras gavetas estavam os medicamentos de marca e nas últimas, os genéricos. A disposição era feita por ordem alfabética e, no processo de arrumação dos medicamentos, tinha sempre o cuidado de respeitar o princípio *first in, first out*. Tal princípio visa que os produtos com menor prazo de validade sejam vendidos primeiro. Neste processo de armazenamento, tinha que ter em atenção os medicamentos psicotrópicos e estupefacientes que eram guardados num local aparte dos restantes.

A gestão de *stocks* inclui, entre outros, a gestão de devoluções e o controlo de prazos de validade. As devoluções são realizadas por diversas razões tais como, prazos de validade a expirar, embalagens danificadas, entrega do produto incorreto ou preços debitados incorretamente. Quanto ao controlo de prazos de validade, todos os meses é emitida uma lista com os produtos cujo prazo de validade expira nos três meses seguintes. Com esta lista, procede-se à recolha dos produtos com prazo de validade igual ou inferior àquela data, colocam-se os mesmos num local separado, sendo posteriormente, devolvidos ao fornecedor respetivo.

Para mim, esta etapa é fundamental no nosso estágio curricular pois, permite-nos familiarizar com os nomes dos medicamentos de marca, saber quais os produtos que têm maior rotação diária, ter a perceção de quais os medicamentos não sujeitos a receita médica e saber o local de armazenamento de cada um.

❖ Sistema informático

Na Farmácia do Calendário todos os procedimentos são realizados no sistema informático Sifarma2000[®]. Desde o primeiro dia de estágio que me foram explicados todos os procedimentos para o uso deste sistema. Assim, também eu pude aprender como se procede nas mais variadas tarefas diárias, tais como: proceder à receção de encomendas, criar encomendas manuais, criar reservas e encomendas instantâneas, consultar toda a informação presente nas fichas de produto, consultar e alterar o *stock* mínimo e máximo dos produtos nas mesmas fichas e realizar notas de devolução. A consultar o histórico de medicação e de outros produtos comprados por cada utente, a fazer a dispensa tanto de receita manual e eletrónica e por fim, a imprimir o documento de controlo de caixa no final do dia.

Estes conhecimentos adquiridos, sem dúvida que serão fundamentais para o meu melhor desempenho no futuro, caso venha a trabalhar numa farmácia comunitária que use o mesmo sistema informático.

❖ Relação de proximidade utente/farmacêutico

Após a realização do trabalho no *BackOffice* passei para o atendimento ao público. Numa primeira fase observava os atendimentos realizados pela equipa da farmácia passando depois a realizar os meus próprios atendimentos.

A farmácia é, muitas vezes, o último local onde os doentes têm um profissional de saúde à sua disposição e muitos utentes têm confiança no farmacêutico para lhe colocar diversas questões sobre algumas patologias ou como e quando devem tomar cada medicamento.

No início a comunicação com o doente não era tão fluída, onde de certa forma transparecia alguma insegurança da minha parte mas, com a ajuda de todos, consegui ultrapassar esses obstáculos e transmitir de uma forma clara e segura toda a informação e aconselhamentos necessários.

Dava uma explicação cuidada da posologia procedendo à sua escrita nas cartonagens dos medicamentos, explicava, se fosse o caso, o modo de fazer inalação em doentes que tivessem que usar inaladores pela primeira vez, certificando-me de que tinham percebido a informação e que se sentiam aptos a fazê-lo sozinhos e fazia a reconstituição, caso fosse necessário, de algumas suspensões orais, deixando-as prontas a serem administradas aconselhando sempre que se deveria agitar bem antes de abrir e guardá-la no frigorífico.

Com esta primeira experiência de interação com o público, apesar de ter tido algumas situações menos agradáveis como a incompreensão por parte do utente quando o medicamento estava indisponível, subida dos preços, insistência em adquirir medicamentos sem receita médica como, por exemplo, um antibiótico, penso que consegui superar todos os obstáculos e cumprir com o meu dever enquanto profissional de saúde.

❖ Período do estágio

O meu estágio em farmácia comunitária decorreu num período de 5 meses o que, para mim, foi uma mais valia, pois consegui realizar todas as tarefas que fazem parte do trabalho de uma farmácia conseguindo ainda aperfeiçoar o meu atendimento ao público.

2.1.2. Pontos Fracos

- ❖ Limitação de conhecimentos na área da dermocosmética, puericultura e medicamentos para uso veterinário

Dermocosmética, puericultura e medicamentos para uso veterinário, foram as três áreas da farmácia comunitária que mais senti dificuldade. Apesar de no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas existir uma cadeira de Dermofarmácia e Cosmética e outra de Preparações de Uso Veterinário, estas não possuem um programa adequado à realidade profissional de conhecimentos requeridos numa FC.

Na Farmácia do Calendário, a procura por estes produtos é constante e, deste modo, considero que a minha prestação no aconselhamento dermocosmético, puericultura e medicamentos para uso veterinário, foi um dos meus pontos fracos durante o estágio.

- ❖ Manipulados

A realização de medicamentos manipulados não faz parte das tarefas exercidas na Farmácia do Calendário sendo, para mim, considerado um ponto fraco, pois não tive oportunidade de ter experiência nesta área.

- ❖ Insegurança no aconselhamento farmacêutico

Neste estágio curricular, foi a primeira vez que tive contacto com os utentes e com o atendimento ao público. No início, durante o aconselhamento farmacêutico, senti alguma insegurança, devido ao receio de errar ou de transmitir alguma informação incorreta ao utente. Sabia que erros de medicação ou de aconselhamento poderiam ter consequências negativas na saúde dos doentes. Os primeiros atendimentos eram demorados pois também não estava ainda bem familiarizada com o procedimento de dispensa no sistema informático Sifarma2000®.

Acho que deveria existir uma componente prática de uma unidade curricular no MICF, que fosse de treino simulado do atendimento farmacêutico, tornando-se o mais semelhante possível à realidade de uma farmácia, o que nos iria permitir corrigir possíveis erros como também preparar os alunos para prestar o aconselhamento adequado e ultrapassar as barreiras do atendimento ao público.

Considero este também um dos meus pontos fracos pois senti que no início estava mais focada em trabalhar com o sistema e não cometer erros no aconselhamento do que no próprio utente.

Pelo facto de ser estagiária, também senti uma falta de confiança por parte de alguns utentes. Com o decorrer do tempo, fui conquistando essa confiança nos meus aconselhamentos farmacêuticos.

2.2. Análise Externa

2.2.1. Oportunidades

❖ Formações

As formações realizadas na farmácia por parte de marcas e laboratórios são constantes e tive a oportunidade de estar presente em todas elas. O desenvolvimento de novas fórmulas tem aumentado e o uso de tecnologia avançada na área da dermocosmética também. Com estas formações, é feita uma formação contínua da equipa da farmácia, o que me permitiu também aumentar os meus conhecimentos principalmente na área da dermocosmética. Para além destas formações que assisti na Farmácia do Calendário, tive a oportunidade de ir a uma formação no Porto do Laboratório Expanscience na apresentação de uma das suas marcas líderes, Mustela. Como referi, a área da puericultura foi um dos meus pontos fracos e, com esta formação, consegui adquirir conhecimentos das várias linhas da marca para um posterior aconselhamento na farmácia.

❖ Contacto com outros profissionais de saúde

Na Farmácia do Calendário, tive a oportunidade de contactar com outros profissionais de saúde, não só da nossa área profissional, como de outras.

Contactei com delegados de informação médica que, sempre que visitavam a farmácia faziam questão de me apresentar os seus produtos, e com a nutricionista e podologista que me ajudaram no aconselhamento de produtos referentes às suas áreas.

❖ Atendimento de forma autónoma

Desde o início que a equipa da farmácia depositou uma grande confiança em mim e em todo o meu trabalho. Apesar de estarem sempre a meu lado, prontos a esclarecerem

qualquer dúvida que me surgisse, permitiram-me realizar o meu trabalho e atendimento de forma autónoma. Quase diariamente, fui confrontada com situações em que utentes se dirigiam à farmácia para adquirir algum medicamento em situações de automedicação, ou porque viram na televisão ou porque um amigo usava e resultava e, houve situações em que desaconselhei essa automedicação dando outras opções mais indicadas. Também houve casos em que os utentes não sentiam necessidade de ir ao médico, recorrendo à farmácia para um aconselhamento farmacológico adequado, principalmente no caso de constipações, e sempre tentei dar o melhor aconselhamento para uma resolução rápida e eficaz do problema.

Considero de extrema importância a possibilidade que me concederam de poder trabalhar de forma autónoma tornando-se fundamental para desenvolver algumas competências, ter confiança no meu trabalho, capacidade de responder a diferentes problemas e capacidade de comunicação.

2.2.2.Ameaças

❖ Publicidade

A publicidade que é divulgada na televisão e noutros meios de comunicação social sobre os produtos de venda livre nas farmácias pode constituir uma ameaça ao trabalho do farmacêutico. Deparei-me muitas vezes com utentes que se dirigiram à farmácia com uma ideia fixa do que pretendiam e, desta forma, torna-se complicado explicar que o produto que pretendem não é, muitas vezes, o recomendado.

Apesar disso, tentei sempre dar o melhor aconselhamento ao utente, apresentando qual a melhor solução para o seu problema, tentando obter da sua parte uma confiança nos profissionais de saúde.

❖ Medicamentos esgotados

Durante o meu estágio foram várias as situações em que os medicamentos solicitados pelos utentes se encontravam rateados ou esgotados, contribuindo para uma maior dificuldade de se encontrar os medicamentos necessários aos utentes. Perante esta situação os utentes culpam o farmacêutico de não conseguir arranjar o seu medicamento.

Durante o meu estágio, tive de explicar a situação ao utente tentando arranjar uma solução, como a troca do medicamento esgotado por outra marca, mas contendo a mesma dosagem e substância ativa ou, na falta dessa possibilidade, pedi que este se dirigisse ao seu médico para que lhe prescrevesse uma alternativa de tratamento. A resolução destas situações nem sempre é fácil, uma vez que alguns utentes têm dificuldade, muitas vezes, em conseguir uma consulta.

❖ Receitas manuais

A prescrição de medicamentos pode realizar-se por via manual quer por falência informática ou casos em que o prescriptor apresenta um volume de prescrição menor ou igual a 40 receitas por mês. Houve algumas situações em que me deparei com receitas manuais as quais poderiam constituir uma maior fonte de erros da minha parte, devido à falta de legibilidade do medicamento prescrito e da respetiva quantidade. Sempre que não conseguia entender o que estava escrito, perguntava a alguém da restante equipa ou, quando havia necessidade, era feita a confirmação com o médico acerca do que se encontrava prescrito.

❖ Dificuldade em associar a substância ativa ao seu nome comercial

No início do meu estágio, senti imensa dificuldade em associar o nome comercial dos medicamentos à sua denominação comum internacional (DCI). Existe uma grande quantidade de moléculas atualmente no mercado e, por vezes, cada uma delas está associada a mais do que uma marca. Este problema foi ultrapassado à medida que fui ganhando experiência e lidando com os produtos mas, considero esta situação um desafio do meu estágio.

3. Casos práticos

3.1. Caso I

Um utente do sexo feminino, mãe de uma criança de 9 e outra de 3 anos, dirige-se à farmácia para comprar um champô para os piolhos. A senhora refere que houve um surto na escola e que ambas as crianças tinham os parasitas.

❖ Intervenção farmacêutica

Perante esta situação, aconselhei Paranix® Champô de Tratamento. A sua composição contempla: óleo mineral, tensioativos e perfume (não contendo inseticidas), pelo que este produto tem ainda a vantagem de fazer a lavagem do cabelo. Este elimina tanto piolhos como lêndeas provocando uma desidratação e asfixia aos parasitas.

Para a correta utilização deste produto expliquei que deveria verificar a cabeça das crianças com a ajuda do pente de dentes metálicos e com o cabelo ainda seco. De seguida, espalhar o produto de forma uniforme no cabelo seco, tendo especial atenção à zona do pescoço e atrás das orelhas, e esperar 10 minutos para que o produto consiga atuar. Após esse tempo, passar por água até criar espuma e enxaguar. Depois de lavado, escovar o cabelo com o pente da raiz até às pontas para assegurar que todos os piolhos são removidos. É importante salientar que se deve limpar sempre o pente após cada escovagem para evitar infestações. Após 7 dias, verificar de novo o cabelo e repetir o tratamento para assegurar que o ciclo de vida dos piolhos está terminado.

3.2. Caso II

Um utente dirige-se à farmácia solicitando algo que o ajude a dormir melhor. Queixa-se que tem dificuldade em adormecer e acorda muitas vezes durante a noite.

❖ Intervenção farmacêutica

Uma vez que o utente se queixava que, para além da dificuldade em adormecer, acordava várias vezes à noite, o ideal será um produto que auxilie não só na indução do sono mas também no prolongamento deste. Deste modo, aconselhei o STILNOITE® TRIPLA AÇÃO, um suplemento alimentar com uma tripla ação sobre o sono sem causar habituação nem dependência. É constituído por Passiflora, um relaxante natural que ajuda no combate do stress e ansiedade; Melatonina, que ajuda no ciclo do sono, contribuindo para a redução

do tempo necessário para adormecer e, extrato de Papoila da Califórnia e Melissa, ajudando na diminuição dos despertares noturnos. Para o efeito desejado, deve ser tomada uma cápsula por dia, à noite, meia hora antes de se deitar.

3.3. Caso III

Um utente com 18 anos chegou á farmácia, acompanhado da mãe, queixando-se de ter uma alergia no peito e uma sensação de prurido que se tornava desconfortável.

❖ Intervenção farmacêutica

Após ter observado o peito do adolescente, recomendei CETIX[®] comprimidos para chupar, uma vez por dia, de preferência à noite, devido à possibilidade deste medicamento provocar sonolência nalguns doentes. Este tinha como substância ativa o dicloridrato de cetirizina 10 mg indicado no tratamento das manifestações cutâneas não complicadas associadas à urticária crónica. Para eliminar o desconforto cutâneo que tanto o incomodava, recomendei o uso de S.O.S PELLE Creme, um creme à base de produtos naturais que reduz de forma rápida e eficaz as irritações e o prurido, protege a epiderme alterada e normaliza o seu funcionamento. Este creme contém SkinSave[®], um complexo lenitivo natural à base de extratos de Alcaparra, Folhas de Oliveira e Opúntia. Este também era aplicado uma vez ao dia.

4. Conclusão

Após terminar o meu estágio curricular percebi que foi dos momentos mais importantes e enriquecedores tanto para a minha vida profissional como pessoal.

Muitas vezes, durante o MICF, não entendemos bem como algumas aprendizagens nos podem ser úteis na vida profissional nem temos a noção de como o nosso papel como futuros Farmacêuticos irá ter importância na vida e saúde dos utentes. Com o estágio conseguimos lidar de perto com o verdadeiro significado da nossa profissão e do ato farmacêutico conseguindo passar para a prática tudo o que aprendemos em teoria.

Em termos profissionais, adquiri novos conhecimentos e percebi o grande impacto do papel do Farmacêutico Comunitário junto da população. Devemos procurar oportunidades para uma formação contínua com o objetivo de melhorarmos o nosso aconselhamento e prestação de cuidados de saúde. Em termos pessoais mudei muito enquanto pessoa, tornando-me menos tímida e mais ativa.

Foram momentos de aprendizagem, desafios, convívio, cansaço, trabalho e amizade mas que no fim valeram a pena.

No entanto, senti que o trabalho do Farmacêutico muitas vezes é desvalorizado mas, com o empenho de todos, penso que podemos conquistar a confiança dos utentes fazendo com que confiem no nosso trabalho e aconselhamento.

Bibliografia

1. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos - [acedido a 5/7/2017] – Disponível na internet: http://www.ordemfarmaceuticos.pt/xFiles/scContentDeployer_pt/docs/Doc10740.pdf

2. Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de Abril – [acedido a 5/7/2017] – disponível na internet: http://www.infarmed.pt/documents/15786/1070327/067-A-DL_95_2004.pdf

3. Boas práticas farmacêuticas na farmácia comunitária – [acedido a 6/7/2017] – disponível na internet:

http://www.ordemfarmaceuticospt/xFiles/scContentDeployer_pt/docs/Doc3082.pdf

4. A Farmácia Comunitária sob o signo das 14 competências-chave – [Acedido a 6/7/2017] – disponível na internet: <http://www.rhfarma.pt/anexos/art007.pdf>

Capítulo II – Monografía

Lista de Abreviaturas

DM – Doença mitocondrial

DNA – Ácido desoxirribonucleico

FAA – Aminoácidos livres

GABA – Ácido gama-aminobutírico

GI – Gastrointestinal

HPA – Hipotálamo-pituitaria-adrenal

IL – Interleucinas

PEA – Perturbações do espectro do autismo

PPA – Ácido propiónico

RNA – Ácido ribonucleico

SCFA – Ácidos gordos de cadeia curta

SNC – Sistema Nervoso Central

Resumo

A microbiota intestinal é o conjunto dos microrganismos que existem no intestino humano, constituída maioritariamente por bactérias, mas também por fungos, vírus e protozoários. O eixo microbiota-intestino-cérebro refere-se às interações entre o sistema nervoso central, o sistema gastrointestinal e os microrganismos que vivem no trato gastrointestinal, interações estas que se realizam via neural, endócrina, imunológica e metabólica.

Alterações neste eixo, designadas de disbiose, podem provocar problemas de crescimento e desenvolvimento, incluindo o desenvolvimento do sistema nervoso central, os quais estão associados à etiologia de várias doenças, nomeadamente, as designadas por Perturbações do Espectro do Autismo.

Problemas gastrointestinais estão intimamente relacionados com esta doença e tratamentos com probióticos, antibióticos e alterações na dieta estão a ser estudados para alívio destes sintomas.

Palavras-chave: Microbiota intestinal, eixo microbiota-intestino-cérebro, disbiose, perturbações do espectro do autismo.

Abstract

The intestinal microbiota is the set of microorganisms that exist in the human intestine, consisting mainly of bacteria, but also by fungi, viruses and protozoa. The microbiota-intestine-brain axis refers to the interactions between the central nervous system, the gastrointestinal system and the microorganisms that live in the gastrointestinal tract. These interactions are carried out via neural, endocrine, immunological and metabolic.

Changes in this axis, called dysbiosis, can lead to problems of growth and development, including the development of the central nervous system, which are associated with the etiology of various diseases, namely Autism Spectrum Disorders.

Gastrointestinal problems are closely related to this disease and treatments with probiotics, antibiotics and changes in diet are being studied to relieve these symptoms.

Key words: Intestinal microbiota, microbiota-intestine-brain axis, dysbiosis, autism spectrum disorders.

I. Introdução

O trato gastrointestinal alberga mais de 100 triliões de microrganismos (bactérias, parasitas, vírus) que são responsáveis por múltiplas funções e, por isso, essenciais à saúde. Apesar do intestino conter uma variedade de microrganismos é, nas bactérias, que se concentram a grande parte dos estudos realizados.¹ É a área mais colonizada do corpo humano contendo concentrações bacterianas que variam desde 10^1 - 10^3 células por grama na parte superior do intestino até 10^{11} - 10^{12} células por grama no cólon.²

Esta microbiota intestinal, que mantém uma relação de simbiose com o hospedeiro (organismo humano) assumindo a função de digestão/absorção de nutrientes e manutenção da homeostasia, mantém uma relação bidirecional com o cérebro, designada de eixo microbiota-intestino-cérebro.^{3,4} Este eixo engloba as interações entre o sistema nervoso central, o sistema gastrointestinal e os microrganismos que habitam o trato gastrointestinal.⁵ Alterações neste eixo, designadas de disbiose, estão relacionadas com a patogénese de doenças intestino-cerebrais como o caso da síndrome do intestino irritável e problemas gastrointestinais e, podem estar também relacionadas com o desenvolvimento de doenças do sistema nervoso central tais como a doença de Parkinson, a dor crónica e as perturbações do espectro do autismo.^{3,5,6}

Perturbações do espectro do autismo (PEA) é o nome de um grupo de distúrbios que incluem uma ampla gama, "um espectro", de sintomas, habilidades e níveis de deficiência que os doentes apresentam. Pessoas com PEA apresentam dificuldade de interação e comunicação com os outros, comportamentos repetitivos e atividades limitadas que os prejudicam na capacidade de funcionarem socialmente.^{6,7} O autismo, síndrome de Asperger e transtorno de desenvolvimento pervasivo não especificado estão associados às perturbações do espectro do autismo.⁷

Os dados disponíveis sugerem uma prevalência de sintomas gastrointestinais de aproximadamente 40% nas PEA e, o aparecimento destes sintomas parece estar relacionado com a gravidade da doença. Dor abdominal, obstipação, diarreia, náuseas e inchaço, são os mais comuns.^{5,8,9}

Apesar da principal causa e patologia das PEA não estar ainda clara e os estudos não demonstrarem uma relação causa-efeito direta entre os sintomas gastrointestinais e este transtorno, investigação recente demonstrou um papel importante do intestino na etiologia desta doença.^{5,10}

Este papel importante das interações microbiota-intestino-cérebro é suportado por estudos em roedores “germ-free” em que se demonstrou que o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) se desenvolve anormalmente na ausência dos microrganismos intestinais normais, levando a uma resposta alterada ao stress. As anormalidades observadas melhoraram, pelo menos em parte, quando os tratos gastrointestinais dos ratos “germ-free” foram reconstituídos com fezes de ratos convencionalmente criados ou, com o microrganismo específico *Bifidobacterium infantis*.^{11,12}

Esta monografia aborda a microbiota intestinal e como as alterações na microbiota afetam o risco de desenvolvimento das perturbações do espectro do autismo e as terapias disponíveis.

2. Microbiota intestinal

No intestino humano, habitam mais de 1 quilograma de bactérias, fungos e vírus, ou seja, uma massa idêntica à do nosso cérebro.^{3,12} O número de bactérias é significativamente maior que o número de células eucariotas do nosso organismo e possuem um genoma diverso e complexo englobando aproximadamente 150 vezes mais genes do que o genoma humano.^{2,11,13,14} A mucosa do trato gastrointestinal contém milhões de neurónios, os quais constituem o sistema nervoso entérico que regula as funções gastrointestinais, por isso o intestino é considerado como um “segundo cérebro”.³

Os microrganismos do intestino, designados de microbiota intestinal,¹² são fundamentalmente bactérias anaeróbias pertencentes a dois *fila* principais: *Bacteroidetes* e *Firmicutes* sendo os *fila* *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* e *Verrucomicrobia* mais raros.⁵

Inicialmente, pensava-se que o ambiente *in utero* era estéril mas, novas evidências, demonstram que a colonização do intestino do feto começa no útero com uma transmissão materno-fetal de bactérias por via do líquido amniótico e cordão umbilical. No entanto, a maioria da microbiota é adquirida durante o parto a partir da microbiota vaginal, anal e da pele materna, assim como das bactérias ambientais às quais o neonato é exposto no período pós-parto.^{3,15,16}

As mudanças mais drásticas na composição da microbiota intestinal ocorrem no momento pós-natal. Um número grande de fatores influenciam a composição da microbiota

intestinal infantil, nomeadamente, fatores maternos (dieta, tipo de parto) e fatores pós-natal (antibióticos, amamentação e genética do hospedeiro), tal como evidenciado na figura I ^{3,17,18}

Começando pela dieta materna, hábitos alimentares ricos em gordura durante a gravidez, diminui a quantidade de *Bacteroides* no recém-nascido e diminui a abundância de *Campylobacter* em primatas. Em relação ao modo do parto, bebés que nasçam por parto natural têm uma microbiota intestinal semelhante à microbiota vaginal da mãe (*Lactobacillus*, *Prevotella* e *Sneathia* spp.) mas, naqueles que nascem por cesariana, é similar à microbiota da pele da mãe (*Staphylococcus*, *Corynebacterium* e *Propionibacterium* spp.).³ Além do tipo de parto, pensa-se que a idade gestacional contribui para a composição microbiana do hospedeiro. Por exemplo, a microbiota de recém-nascidos prematuros não possui dois dos principais géneros bacterianos geralmente presentes em bebés que nasçam no fim do tempo.¹⁷ Durante os primeiros dias de vida, a microbiota intestinal da criança é de baixa diversidade e instável, estabilizando com a alimentação (leite materno ou suplementos). Este é mais um fator que vai influenciar a composição dos microrganismos onde a microbiota dos bebés alimentados com suplementos parece ser mais diversificada do que a dos lactentes amamentados, cuja microbiota tem um padrão de colonização mais estável.¹⁷ Os antibióticos também desempenham um papel crucial na modelação da microbiota onde crianças tratadas com antibióticos durante os primeiros 3 anos, apresentam um conjunto de bactérias menos diversificado.³

A microbiota intestinal infantil é, como referido acima, altamente variável, assemelhando-se à da mãe e refletindo uma combinação de fatores genéticos, saúde materna, método de parto, nutrição e exposição materna e pós-natal a antibióticos¹⁹ No entanto, desenvolve um perfil complexo e distinto a partir dos 2-3 anos de idade apresentando já uma composição da microbiota intestinal semelhante à de um adulto, que tende a ser estável, embora possa sofrer alterações com o desenvolvimento.^{15,18} Estas variações no desenvolvimento Humano são devidas a características da dieta alimentar como concentração de hidratos de carbono, proteínas, gorduras e fibras.

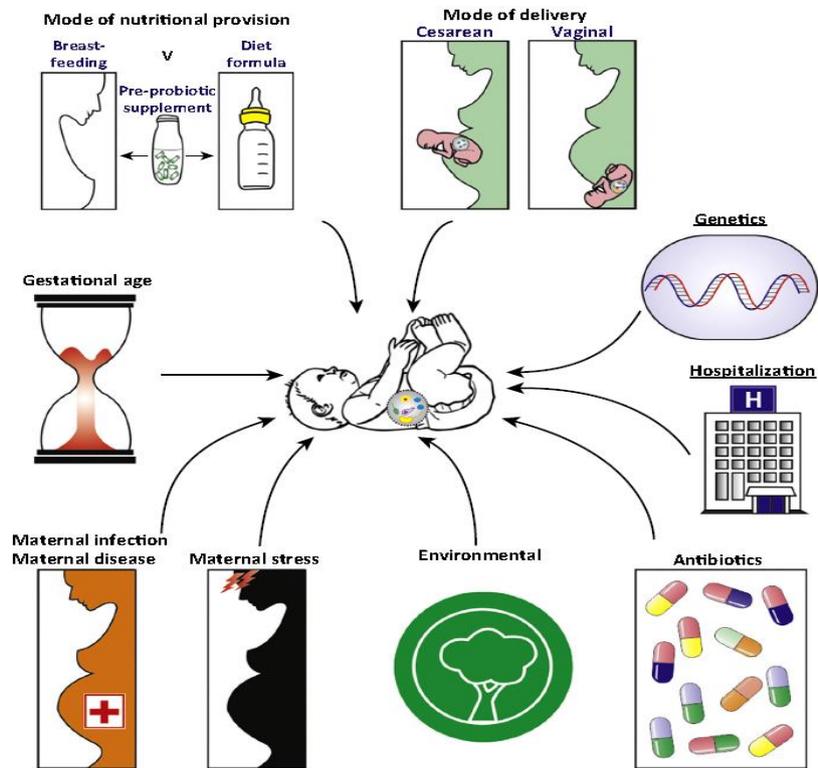


Figura 1. Fatores que influenciam o desenvolvimento da microbiota infantil. Além do tipo de parto, nutrição, meio ambiente, outros fatores como idade gestacional, genética e hospitalização, também influenciam a composição microbiana da criança. Infecções e uso de antibióticos influenciam também o desenvolvimento da microbiota. Em conjunto, uma multiplicidade de fatores com a capacidade de modelarem o desenvolvimento microbiano sugerem a importância da influência ambiental no estabelecimento de uma microbiota intestinal.¹⁷

Conclui-se então que, diferentes hábitos alimentares podem provocar alterações significativas na população microbiana do intestino^{13,15} levando a que exista uma composição equilibrada no seu hospedeiro, mas que existam variações inter-individuais.^{5,20}

A microbiota intestinal, que mantém uma relação de simbiose com o hospedeiro, tem múltiplas funções.^{13,18} Constitui a barreira intestinal, promove a contínua regeneração da microbiota intestinal, estimula a regeneração das células e produz ácidos gordos de cadeia curta como o ácido acético, propiónico e butírico. Estes ácidos gordos, derivados de bactérias, podem servir como fonte de combustível para os enterócitos podendo alterar os espaços intercelulares entre as células, resultando num intestino “aberto” que permite que mais metabolitos e bactérias passem através da barreira epitelial, o que, como irei abordar mais à frente, pode levar a efeitos neurológicos prejudiciais.¹⁴ Está também envolvida na maturação do sistema imunológico, estimulando a imunidade inata numa fase inicial, levando a uma maturidade do tecido linfóide e, mais tarde, a imunidade adquirida, estimulando a resposta imune local e sistémica. Promove ainda o metabolismo de certos nutrientes, hormonas e vitaminas e tem um papel importante na remoção de fármacos e venenos.^{6,12,18}

Para além destas funções no organismo Humano, sabe-se agora que mantem uma importante ligação com o cérebro. Como prova disso, estudos em animais isentos de microrganismos no intestino (“germ-free”) mostraram que estes animais apresentavam anormalidades no desenvolvimento que podem ser revertidas reconstruindo a microbiota intestinal. Apresentaram alterações significativas na concentração do neurotransmissor serotonina no hipotálamo que, por sua vez, afeta vários aspetos do desenvolvimento do sistema nervoso central, incluindo a formação de sinapses e a conectividade entre várias regiões do sistema nervoso central. Este neurotransmissor é um fator chave no desenvolvimento do sistema nervoso entérico e a alteração da sua concentração no sangue pode modelar a estrutura e a função deste sistema. Conclui-se então que, a microbiota intestinal possui um papel fundamental no desenvolvimento pós-natal do sistema nervoso entérico e no desenvolvimento do SNC, levando à sugestão que participa no desenvolvimento de processos cognitivos, emocionais e comportamentais logo após o nascimento.¹⁹

É notório que a microbiota intestinal desempenha um papel fundamental na vida e na saúde do hospedeiro. Para além de o proteger contra patogénicos, metabolizar nutrientes e fármacos e influenciar a absorção e distribuição de gorduras alimentares, a influência da microbiota vai para além do intestino, desempenhando um papel importante na comunicação bidirecional entre o trato gastrointestinal e o sistema nervoso central.¹⁷

Em indivíduos saudáveis, a microbiota dominante normal é relativamente estável e estabelece um relacionamento mutuamente benéfico com o hospedeiro. No entanto, as perturbações nesta relação sinérgica podem ter sérias consequências e têm o potencial de exacerbar distúrbios digestivos, metabólicos e do desenvolvimento neurológico, como o autismo.^{2,17}

3. Relação microbiota-intestino-cérebro

A interação entre o hospedeiro e os microrganismos intestinais não é unidirecional. Mudanças na microbiota intestinal ou a exposição do intestino a uma determinada bactéria, conseguem modelar o sistema nervoso central, resultando numa alteração das funções do cérebro sugerindo, assim, a existência de um eixo de comunicação intestino-cérebro.^{11,20}

Dada a importância da microbiota na modelação da saúde, o eixo intestino-cérebro foi estendido para eixo microbiota-intestino-cérebro, que representa uma rede complexa de comunicação entre a microbiota intestinal, o intestino e o cérebro.¹⁷

O eixo microbiota-intestino-cérebro é um sistema de comunicação bidirecional, que permite aos microrganismos do intestino comunicarem com o cérebro e, ao cérebro, comunicar com o intestino.^{1,2} Abrange o SNC, os ramos simpáticos e parassimpáticos do sistema nervoso autónomo, bem como o sistema nervoso entérico e os sistemas neuroendócrino e neuroimune.¹⁷ Ambos os ramos do sistema nervoso autónomo regulam as funções intestinais como a motilidade, secreção de ácido, produção de bicarbonatos e muco, manutenção do líquido epitelial, permeabilidade do intestino e resposta imunológica.²¹

O intestino pode interagir com o cérebro através de duas vias principais. A primeira é a troca de informações diretas entre o intestino e o cérebro pelo sistema nervoso autónomo e o nervo vago na medula espinhal, constituindo a via neural e, a segunda, é uma comunicação bidirecional entre o intestino e o cérebro através da comunicação entre o sistema nervoso entérico e o sistema nervoso autónomo e nervo vago dentro da medula espinhal (Figura 2).^{1,18}

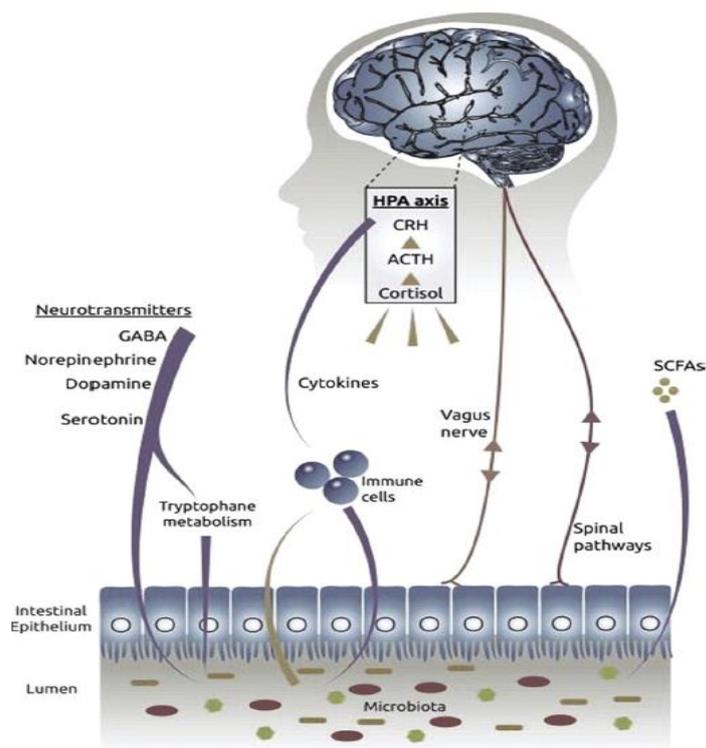


Figura 2. Vias de comunicação entre a microbiota intestinal e o cérebro. Incluem a via neuronal, através do nervo vago, a via metabólica (SCFA), a via imunológica (citocinas) e via endócrina (neurotransmissores).²

3.1. Vias de comunicação

3.1.1. Via neuronal

O nervo vago é considerado a chave da via de comunicação neuronal.² É uma importante via sensorial e é constituída por aproximadamente 80% de fibras aferentes que retransmitem os sinais dos órgãos periféricos (coração, intestino) até ao sistema nervoso central. Lyte *et al.* (1998) realizaram um estudo em animais e demonstraram que ratos com infeção subclínica de *Campylobacter jejuni* apresentavam um comportamento alterado quando comparados com ratos não infetados. As alterações comportamentais ocorreram provavelmente por vias mediadas pelo nervo vago na medida em que eram semelhante à ansiedade. Nesta alteração comportamental, não ocorreram aumentos nas citocinas inflamatórias periféricas, sugerindo que a mudança de comportamento se deveu à ativação neural, e não através de mediadores inflamatórios circulantes. Estudos posteriores confirmaram que *Campylobacter jejuni* ativou vias aferentes vagais.²² A vagotomia abala essas respostas neuro-comportamentais, apoiando a presunção de que o nervo vago é uma via de transmissão essencial entre a microbiota intestinal e o cérebro.¹⁶

A associação entre o cérebro e o intestino foi estabelecida pela primeira vez para explicar como o sistema nervoso central poderia afetar a função GI. No entanto, o foco atual centra-se na compreensão da outra direção desta via, ou seja, como os microrganismos intestinais através do sistema nervoso entérico afetam o cérebro.⁷

Esta comunicação indireta do cérebro com o intestino ocorre por via endócrina, imunológica e metabólica (Figura 2).^{1,2,20}

3.1.2. Via endócrina

Esta é uma via, através da qual, a microbiota comunica com o cérebro envolvendo neurotransmissores.³

Várias estirpes específicas de bactérias intestinais demonstraram produzir e secretar neurotransmissores que ativam ou inibem neurónios. Por exemplo, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* spp podem produzir ácido gama-aminobutírico (GABA); *Escherichia*, *Bacillus* e *Saccharomyces* spp podem produzir noradrenalina; *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia* e *Enterococcus* spp podem produzir serotonina; *Bacillus* podem produzir dopamina e *Lactobacillus* podem produzir acetilcolina. Estes neurotransmissores, sintetizados pelos microrganismos, podem atravessar a mucosa do intestino em caso de disbiose, embora seja

altamente improvável que eles influenciem diretamente a função cerebral pois são incapazes de passar a barreira hematoencefálica. O seu impacto na função cerebral será então indireto através de células tipo-enterocromafim e/ou nervos entéricos (sistema nervoso entérico).^{2,16}

3.1.3. Via imunológica

Outro modo de comunicação da microbiota com o SNC ocorre através do sistema imunológico.¹⁶ Como o sistema nervoso tem comunicação bidirecional constante com o sistema imunológico, os efeitos das bactérias no sistema nervoso não podem ser dissociados dos efeitos no sistema imunológico.²⁰ É uma comunicação mediada por citocinas, produzidas ao nível do intestino por ativação do sistema nervoso entérico, que podem viajar através da corrente sanguínea para o cérebro.^{2,16} Muitos estudos mostraram níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1b, IL-6, IL-8 e IL-12p40, no plasma de indivíduos com PEA. As respostas imunológicas a toxinas produzidas por um microrganismo patogénico aumentam a permeabilidade intestinal, o que permite a translocação das bactérias intestinais através da parede intestinal, onde ativam as células do sistema imunológico associado à mucosa. As células ativas libertam citocinas inflamatórias e ativam o sistema vagal que, por sua vez, regula a atividade do SNC. Uma resposta imune alérgica, mediada por imunoglobulinas no intestino, aumenta os níveis de 5-hidroxitriptamina e diminui os níveis de ácido 5-hidroxiindoleacético aumentando o comportamento repetitivo.^{3,18}

Também nesta via é improvável que estes compostos passem a barreira hematoencefálica mas, evidências crescentes indicam uma capacidade de influenciar áreas do cérebro como o hipotálamo, onde a barreira hematoencefálica é deficiente. É através deste mecanismo que as interleucinas 1 e 6 ativam o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, provocando a libertação do cortisol, um ativador de *stress*. O eixo HPA, que faz a regulação central da resposta ao *stress*, pode ter um impacto significativo no eixo microbiota intestinal-cérebro.¹⁶

3.1.4. Via metabólica

Uma variedade de produtos biologicamente ativos derivados da microbiota intestinal podem influenciar direta ou indiretamente o cérebro.

Os produtos bacterianos podem ser absorvidos na corrente sanguínea e afetar diretamente locais remotos no cérebro ou, de forma indireta, as bactérias podem interagir com elementos locais no intestino, como nervos ou células endócrinas que, por sua vez, sinalizam para o cérebro.²

Os ácidos gordos de cadeia curta (SCFA), que incluem o butirato, o propionato (PPA) e o acetato, são produtos metabólicos essenciais da atividade microbiana intestinal resultantes da fermentação de hidratos de carbono não digeríveis. Podem atuar como moléculas de sinalização pela ligação aos recetores acoplados à proteína G, Gpr41 e Gpr43, os quais estão abundantemente presentes na superfície das células epiteliais intestinais e imunológicas, ativando-as. Esta ativação pode provocar uma resposta inflamatória que pode ser útil numa infeção aguda mas, a desregulação pode produzir uma resposta exagerada que leva a uma maior permeabilidade intestinal e aumento da absorção destes metabolitos neuro-ativadores. Também podem ativar diretamente o sistema nervoso simpático através de recetores Gpr41 encontrados em neurónios ganglionares. Além disso, os SCFA podem passar através da barreira hematoencefálica e influenciar a sinalização neural, a produção de neurotransmissores e, em última análise, o comportamento.¹⁹

Nos seres humanos, a interação entre os sintomas gastrointestinais e psicológicos é complexa.¹⁶ A microbiota do intestino regula a homeostase e, quando esta se afasta de uma microbiota saudável, pode ser um risco para a saúde Humana.⁴

Os mecanismos neurais, endócrinos e metabólicos são mediadores críticos da sinalização do eixo microbiota-intestino-cérebro e estão envolvidos em distúrbios neuropsiquiátricos.⁷

4. Microrganismos e a função cerebral

O impacto dos microrganismos na função cerebral reflete-se no facto de que muitas doenças são derivadas de distúrbios na microbiota intestinal. Sabe-se, por exemplo, que os microrganismos do intestino estão associados ao eixo hipotálamo-pituitária-adrenal uma vez que, os níveis das hormonas corticóide e adrenal, em resposta ao stress, são mais elevados em animais estéreis do que nos não estéreis.¹³

Assim, como a microflora intestinal pode afetar o sistema nervoso central e o comportamento, os principais efeitos sobre as doenças cerebrais parecem ser importantes.

4.1. Doenças do sistema nervoso central e a microbiota intestinal

As interações entre hospedeiros e microrganismos sugerem que, quando esta relação é anormal, os microrganismos podem causar doença ou promover a progressão da doença.¹³

São vários os mecanismos pelos quais a disbiose da microbiota intestinal pode afetar a função cerebral:¹⁴

- ❖ **Destruição da barreira** - A barreira epitelial intestinal (mucosa) é o principal local de contacto entre os microrganismos e as proteínas imunogénicas, servindo como uma segurança interna para que o hospedeiro processe e permita a entrada de fatores extrínsecos essenciais, ao mesmo tempo que bloqueia a transmissão de microrganismos prejudiciais.^{14,23,24}

As ruturas nesta região possibilitam a propagação bacteriana e aumentam o potencial de transmissão sistémica de antigénios, fatores de virulência e outros metabolitos bacterianos. Tais fatores podem afetar a função cerebral e os processos inflamatórios.¹⁴

- ❖ **Disfunção mitocondrial** - A doença mitocondrial (DM) é mais uma característica pela qual a microbiota intestinal pode provocar o desenvolvimento de uma doença do sistema nervoso central. Os SCFA, especialmente o ácido propiónico, que estão aumentados nas perturbações do espectro do autismo, podem contribuir para a disfunção mitocondrial. Um mecanismo pelo qual o PPA pode interferir com a mitocondria é através da alteração do ciclo do ácido tricarbóxico, via conversão do PPA em propionil-CoA. Prejudica o metabolismo da carnitina, que é um cofator necessário para transportar os ácidos gordos de cadeia longa através da membrana mitocondrial para a beta-oxidação e produção de energia.

A oxidação anormal de ácidos gordos manifesta-se com o aumento das concentrações circulantes de acil-carnitina, potencial biomarcador para este distúrbio.

As mitocondrias são vitais para todas as células animais, especialmente no cérebro e a disfunção mitocondrial induzida pela microbiota intestinal pode resultar em défices neuro-comportamentais.¹⁴

- ❖ Mecanismo neuro-endócrino - As bactérias intestinais podem produzir os seus próprios neurotransmissores, que imitam os do hospedeiro e, portanto, alteram a via neural.¹⁴

- ❖ Alterações epigenéticas - O termo “epigenética” é utilizado para definir qualquer alteração que ocorra independentemente da mutação do DNA. Alterações na microbiota intestinal podem desencadear mudanças epigenéticas, levando a manifestações comportamentais.
O ácido butírico, de origem bacteriana, é um inibidor das histonas desacetilases que são enzimas que removem o grupo acetilo das histonas, permitindo que estas se reassociem ao DNA e bloqueiem a sua transcrição. Outros SCFAs incluindo o PPA, o lactato e o piruvato, também atuam como inibidores fracos de histona desacetilase. A microbiota parece estar na origem de outras epimutações no hospedeiro como rearranjos de cromatina, alterações em RNAs não codificados e em fatores de reparação do RNA. Um estudo sugere que bactérias patogênicas podem inibir a RNA polimerase II, uma enzima necessária para a codificação de RNAs. Curiosamente, evidências recentes mostram que algumas bactérias endossimbióticas produzem pequenos RNAs não codificantes com potencial para afetar os processos do hospedeiro.¹⁴

Recentemente, o eixo microbiota-intestino-cérebro emergiu como um fator-chave nas fases do desenvolvimento neurológico, indicando que eventos durante a colonização inicial e o desenvolvimento da microbiota podem determinar a saúde mental e geral na vida adulta. A infância e a adolescência são os períodos de mudança mais dinâmicos em relação à microbiota e ao desenvolvimento do cérebro. Assim, as interrupções durante esses períodos críticos da interação dinâmica entre a microbiota e o hospedeiro têm a capacidade para afetar a saúde ao longo da vida e aumentar o risco de distúrbios do desenvolvimento neurológico como é o caso das perturbações do espectro do autismo.¹⁷

4.1.1. Doenças do desenvolvimento neurológico

Os distúrbios do desenvolvimento neurológico são caracterizados pelo comprometimento do desenvolvimento cerebral e anormalidades comportamentais, cognitivas e/ou físicas.¹⁷

Perturbações do espectro do autismo (PEA), são um tipo de transtorno do desenvolvimento da função cerebral que começa durante a fase inicial do crescimento e se manifesta em distúrbios do desenvolvimento da linguagem e comportamentos estereotipados, cuja prevalência tem vindo a aumentar.^{2,13}

A origem das PEA está ligada principalmente a associações genéticas, mas evidências recentes sugeriram que outros fatores ambientais, incluindo a exposição pré ou pós-natal a produtos químicos e fármacos, poluição do ar, stress, infeção materna, microbiota intestinal e fatores dietéticos, podem desempenhar um papel no desenvolvimento da doença.^{7,17} Está frequentemente associada a sintomas gastrointestinais, os quais foram associados a alterações na composição e função da microbiota intestinal¹⁷, cuja relevância tem sido uma fonte de controvérsia de longa data. Até 70% dos pacientes com este transtorno apresentam sintomas abdominais e daí a visão de que é um distúrbio do eixo microbiota-intestino-cérebro (Figura 3)²

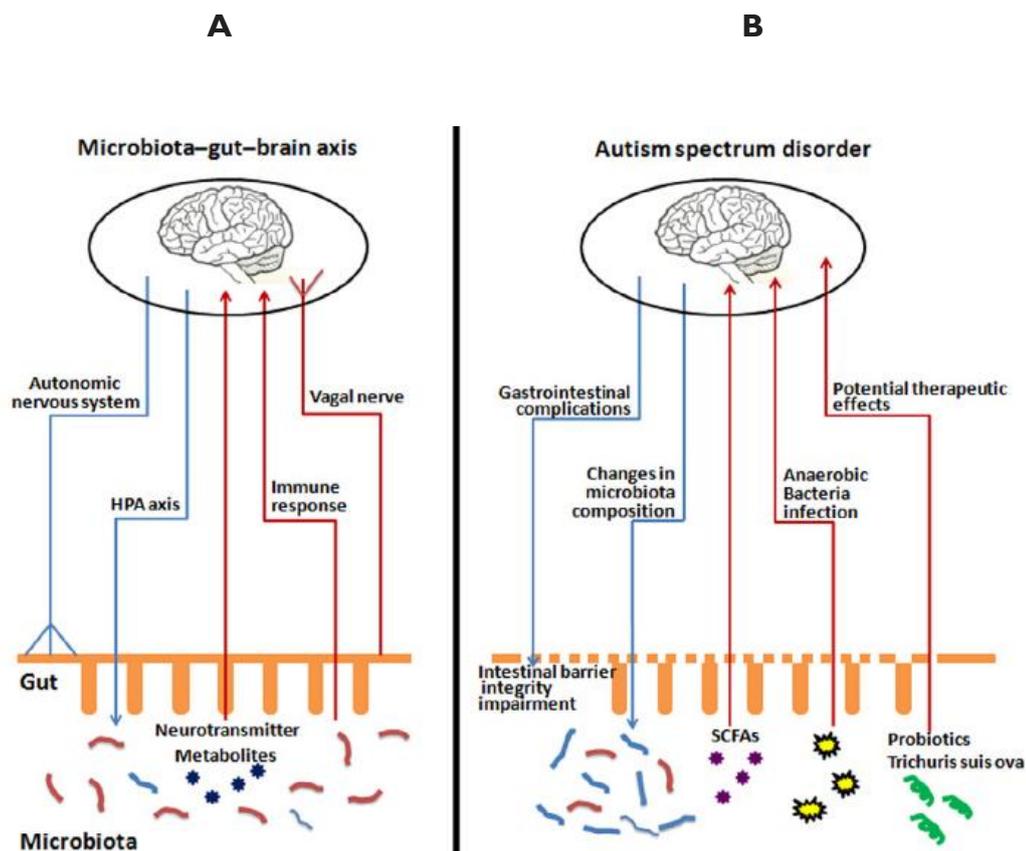


Figura 3. O eixo microbiota-intestino-cérebro e o seu papel potencial nas perturbações do espectro do autismo (PEA). **(A)** A comunicação bidirecional dentro do eixo microbiota-intestino-cérebro ocorre principalmente através do sistema nervoso autónomo, eixo HPA, neuro-endócrino e neuro-imune. **(B)** As manifestações de disbiose no eixo microbiota-intestino-cérebro na patologia das PEA. Os défices autistas estão associados a sintomas gastrointestinais e alterações de composição na microbiota intestinal. Por outro lado, os metabolitos patogénicos derivados da microbiota

intestinal e a infecção intestinal das bactérias anaeróbicas podem participar do desenvolvimento deste distúrbio atravessando a barreira intestinal lesada. Os modeladores do eixo microbiota-intestino-cérebro, como os probióticos, mostraram possíveis efeitos terapêuticos nas PEA.⁵

São várias as características intestinais comuns aos doentes autistas que levam à hipótese de que este transtorno está associado ao comprometimento do eixo microbiota-intestino-cérebro.

- ❖ Disbiose - A alteração da comunidade microbiológica normal em seres humanos, também chamada de "disbiose", está associada a um número crescente de distúrbios, como doença inflamatória intestinal, síndrome do intestino irritável, obesidade, hipertensão, diabetes e autismo.⁸ Caracteriza-se por um desequilíbrio na microbiota intestinal que incluiu o crescimento excessivo de alguns organismos e a perda de outros. Havendo um desequilíbrio da flora intestinal, a permeabilidade da mucosa intestinal aumenta, péptidos exógenos de origem dietética e péptidos neurotóxicos de origem bacteriana entram no sistema circulatório e causam danos no SNC, resultando num atraso do desenvolvimento neurológico. A maioria dos pacientes autistas têm diarreia, dor abdominal, constipação, refluxo gastroesofágico e outros sintomas gastrointestinais os quais estão intimamente associados à gravidade da doença. Uma característica das crianças portadoras desta doença é que têm um conteúdo significativamente maior dos gêneros *Faecalibacterium* e *Clostridium* do que crianças normais, responsáveis pelos sintomas gastrointestinais e comportamentos característicos deste transtorno, e um aumento no género *Faecalibacterium*, que poderá ser a principal causa da disfunção imunológica em pacientes com PEA. Estas duas espécies são associadas á sintomatologia das PEA.^{11,13} Há uma diminuição significativa da relação Bacteroidetes/Firmicutes e um aumento de *Desulfovibrio spp*, espécie bacteriana correlacionada com a gravidade do autismo.^{1,2,23} Estes doentes têm uma microbiota menos diversa com níveis mais baixos de alguns géneros como *Prevotella*, *Coprococcus* e *Veillonellaceae* que, curiosamente, são conhecidos por metabolizarem hidratos de carbono e, baixos níveis de *Bifidobacteria*, uma espécie que tem efeitos anti-inflamatórios (Figura 4).⁸

Estas crianças toleram uma gama mais restrita de alimentos e exibem mais problemas de alimentação do que crianças sem este transtorno. Recusam mais alimentos e exibem um reportório de alimentos mais limitado do que as crianças tipicamente em desenvolvimento. Muitos pais queixam-se de que os filhos, portadores da doença, são

comedores seletivos. Rejeitam alimentos por vários motivos, incluindo problemas com a apresentação dos alimentos, o uso de certos utensílios e a inclusão de diferentes tipos de alimentos no mesmo prato. Em comparação com crianças saudáveis, ingerem menos frutas, vegetais e proteínas e têm uma ingestão diária significativamente menor de potássio, cobre, folato e cálcio. Como já referido, a ingestão de alimentos influencia a composição da microbiota intestinal e, uma diminuição da ingestão de hidratos de carbono diminui os níveis de *Roseburia spp.* e *Eubacterium rectale*.³

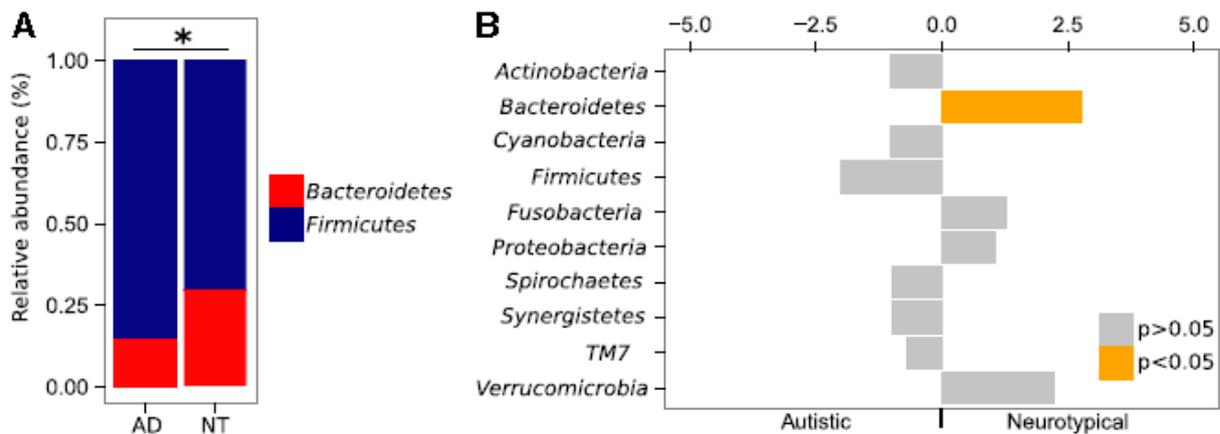


Figura 4 (A) Quantidade relativa (%) de *Firmicutes* e *Bacteroidetes* em indivíduos autistas (AD) e neurotípicos (NT). **(B)** Abundâncias relativas de phyla bacterianos em indivíduos autistas (cinzento) e neurotípicos (laranja).²³

Além disso, as alterações induzidas pela dieta na composição da microbiota intestinal influenciam os níveis séricos de metabolitos.³

- ❖ Perfil metabólico - A metabolômica é um campo de pesquisa em constante evolução que aborda os padrões metabólicos dos sistemas vivos. Este campo é comumente definido como o estudo do conjunto completo de metabolitos, que varia de acordo com o estado fisiológico de uma célula, tecido ou organismo. Foi estimado que 90% das crianças com PEA comem apenas uma pequena variedade de alimentos com fortes preferências para amidos, lanches e alimentos processados e rejeitam a maioria das frutas e legumes. Estes são reconhecidos como um dos principais modeladores externos da microbiota GI humana e afetam o perfil metabólico total.

A concentração de aminoácidos livres (FAA) totais e individuais, derivados da hidrólise de proteínas e péptidos, nas amostras fecais de crianças com autismo apresenta níveis elevados que se correlacionam com a presença de bactérias proteolíticas como é o caso de *Clostridium* encontrada em grande quantidade em crianças com PEA. Alguns FAA, especialmente o glutamato (Glu), também atuam como neurotransmissores no SNC desempenhando um papel fundamental na fisiopatologia de alguns transtornos neuropsiquiátricos e, por exemplo, um excesso de Glu pode levar à morte celular neuronal. O indol, um metabolito microbiano do triptofano, que é sintetizado por várias bactérias comensais que colonizam o trato GI humano, e é um precursor crítico de moléculas fisiologicamente importantes como a serotonina e a melatonina, também está aumentado nestas crianças.³ Aproximadamente 40% das crianças com PEA têm um nível elevado de serotonina que pode causar diarreia e até alteração do estado mental.⁷

- ❖ Ácidos gordos de cadeia curta - Embora a composição da microbiota intestinal varie muito entre os indivíduos, alterações da homeostase intestinal podem afetar a produção dos ácidos gordos de cadeia curta, que são produtos da fermentação bacteriana intestinal que regulam respostas imunológicas adaptativas intestinais e desempenham funções-chave no funcionamento do SNC.^{1,2,20}
Desempenham um papel crítico em pacientes com PEA e foram detetadas maiores concentrações de SCFA em matéria fecal de crianças com autismo em comparação com grupos controle.^{7,5}
O ácido propiónico, que é produzido principalmente por *Clostridia* e *Bacteroidetes*, pode atravessar a barreira hematoencefálica e induzir comportamentos semelhantes aos das perturbações do espectro do autismo provavelmente alterando alguns neurotransmissores, como a dopamina e a serotonina.^{1,19}
O butirato pode modelar a síntese dos neurotransmissores dopamina, norepinefrina e epinefrina alterando a expressão do gene da tirosina hidroxilase.³
- ❖ Perfil metabólico urinário - São várias as substâncias anormalmente aumentadas ou diminuídas na urina de indivíduos autistas. O ácido 3-(3-hidroxifenil)-3-hidroxiopropanóico mostrou-se aumentado na urina de pacientes com PEA e está associado a comportamentos autistas em animais.^{7,13}

Por fim, há um aumento da excreção de triptofano, um precursor da serotonina, que se correlaciona com o aumento da sua degradação observado em condições psiquiátricas como depressão, atraso mental e ansiedade.⁷

5. Tratamentos

Atualmente, não há tratamentos eficazes para as perturbações do espectro do autismo e, os pais, muitas vezes impulsionados pela esperança de uma cura, procuram a medicina complementar e alternativa e são encorajados pela crença de que essa abordagem é livre de riscos. Entre estes tratamentos alternativos estão o uso de suplementos vitamínicos e adoção de dietas de eliminação, em particular de glúten e/ou caseína.⁷

Com base na premissa de que o eixo microbiota-intestino-cérebro é um fator de risco potenciador das PEA, várias medidas podem ser preconizadas. Estas incluem: dietas que facilitem o crescimento de bactérias, prebióticos, probióticos, simbióticos, antibióticos, pósbióticos, transplante fecal e carvão ativado (Figura 5). Os benefícios de cada uma dessas terapias adjuvantes são brevemente considerados:¹⁴

5.1. Dieta

Muitos fatores ambientais podem afetar o eixo microbiota-intestino-cérebro, como por exemplo a ingestão diária de alimentos.⁵ Diferentes hábitos alimentares provocam alterações da microbiota intestinal e efeitos subsequentes para a saúde.¹⁴

As dietas contendo edulcorantes artificiais foram ligadas à disbiose intestinal. Verificou-se que os alimentos podem influenciar a composição da microbiota intestinal. Por exemplo, as contagens de *Clostridium difficile* e *Escherichia coli* são significativamente menores na microbiota intestinal de lactentes amamentados do que em lactentes alimentados com suplementos. As mudanças induzidas pela dieta na microbiota podem então influenciar os metabolitos do soro e modelar a atividade cerebral no hospedeiro. Portanto, certos alimentos podem restaurar o equilíbrio do eixo microbiota-intestino-cérebro e ter efeitos terapêuticos sobre os défices relacionados às PEA.⁵

Uma dieta livre de glúten e sem caseína pode ser usada para tratar os sintomas comportamentais centrais e periféricos em certos pacientes com este transtorno podendo influenciar favoravelmente as populações da microbiota intestinal e a função de barreira

intestinal. Tal como acontece com outros tratamentos propostos, este tratamento potencial precisa ser submetido a testes rigorosos.¹⁴

5.2. Probióticos/simbióticos

O uso de probióticos baseia-se na premissa de que tais bactérias podem estimular o crescimento de bactérias vantajosas, resultando no efeito a longo prazo de promover uma vida saudável.¹⁴

São organismos não-patogénicos vivos, que quando consumidos em quantidades adequadas podem conferir vários benefícios para a saúde e organismo do hospedeiro. (4,20) As bactérias produtoras de ácido láctico, tais como *Bifidobacteria* e de *Lactobacilli* compreendem a maioria dos produtos probióticos atualmente disponíveis. (2,20) São considerados produtos alimentares seguros para consumo humano pela Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA e seus homólogos europeus.¹⁴

Atualmente são utilizados em distúrbios gastrointestinais⁵ e, para além de um efeito direto na composição da microbiota intestinal (diminuição de *Clostridia*), eles são capazes de reconstituir a barreira gastrointestinal através do aumento da produção de mucina por células globulares, fortalecendo as junções apertadas e, portanto, a adesão intercelular.^{6,7}

O tratamento de murganhos com o probiótico *B. fragilis* melhorou a integridade da barreira intestinal e a disbiose intestinal, aumentou vários metabolitos associados às PEA e inibiu as perturbações comportamentais características deste transtorno.^{5,20}

Recentemente, o tratamento com probióticos foi ampliado para incluir prebióticos, que são fibras dietéticas, solúveis, como por exemplo, galacto-oligosacarídeos (GOS) ou fructo-oligosacarídeos (FOS) que estimulam o crescimento da microbiota intrínseca.² O tratamento combinado de pré e probióticos é referido como terapia simbiótica.¹⁴ Existe agora um conjunto de dados pré-clínicos, ainda que pouco abundantes, para apoiar a eficácia de simbióticos no alívio das doenças neurológicas.^{2,14}

5.3. Antibióticos

Os antibióticos podem ser bacteriolíticos ou bacteriostáticos para bactérias intestinais suscetíveis, mas também podem suprimir o crescimento de populações comensais e benéficas. Um estudo em pequena escala tratou 11 crianças com PEA durante 8 semanas

com vancomicina, um antibiótico oral de amplo espectro, e, concluiu que a comunicação das crianças e estados comportamentais melhoraram significativamente durante o período de tratamento. No entanto, os efeitos benéficos foram efêmeros, com complicações comportamentais recorrentes após o fim do tratamento com o antibiótico. As bactérias normalmente presentes nestas perturbações conseguiram recuperar após o antibiótico ter sido descontinuado e, por estas razões, os antibióticos geralmente não recebem muita credibilidade como terapia de longo prazo para esta doença.¹⁴

5.4. Pósbióticos

Outra abordagem terapêutica contra distúrbios neurocomportamentais induzidos por disbiose intestinal, passa por identificar os metabolitos específicos ou moléculas alteradas por mudanças microbianas e, em seguida, suplementar a dieta com esses nutrientes ou seus precursores. Exemplos de metabolitos afetados pela microbiota intestinal incluem os SCFA. Por outro lado, certos metabolitos estão elevados nas perturbações do espectro do autismo como é o caso do *p*-cresol, indol piruvato e PPA. Portanto, dietas pré e posbióticas podem ser concebidas para prevenir a síntese bacteriana de metabolitos nocivos e, simultaneamente, complementar com aqueles que podem ser benéficos.¹⁴

5.5. Transplante de microbiota fecal

O transplante de microbiota fecal é uma estratégia de remediação terapêutica empregada para restaurar o equilíbrio normal da flora intestinal.¹⁴ É uma intervenção na qual a microbiota fecal de um indivíduo saudável é transplantada para um paciente com disbiose intestinal.³ Tem sido particularmente bem sucedido no caso de infecção recorrente por *C. difficile*.^{3,14} O transplante já foi aplicado no tratamento no caso da doença inflamatória e síndrome do intestino irritável com base na expectativa de que pode normalizar a microbiota intestinal e melhorar os sintomas intestinais. Assim, há um interesse crescente em usar o transplante de microbiota fecal para tratar crianças com PEA. No entanto, a segurança do transplante deve ser considerada. Os potenciais efeitos adversos incluem diarreia, cólicas abdominais, desconforto/inchaço abdominal e pode inadvertidamente introduzir infecções oportunistas no sistema GI do destinatário.^{3,14}

5.6. Carvão ativado

O carvão ativado é um tratamento padrão em muitos casos de toxicidade oral aguda porque o composto liga-se às toxinas presentes no sistema GI superior evitando a absorção através da parede intestinal. Dado que, as toxinas produzidas pela microbiota intestinal podem levar a efeitos prejudiciais no cérebro, o carvão ativado pode ser útil nos distúrbios neuro-comportamentais induzidos pelos microrganismos, incluindo nas PEA. Alguns estudos sugerem que o carvão ativado consegue também suprimir o crescimento de bactérias intestinais resistentes aos antibióticos. No entanto, semelhante aos tratamentos com antibióticos, é provável que quaisquer efeitos benéficos desta intervenção sejam de curta duração e a sintomatologia da doença retorne após a cessação desta terapia.¹⁴

A microbiota é uma entidade dinâmica, influenciada por fatores como os genes, a dieta, metabolitos, idade, geografia, uso de antibióticos e stress. Assim, as características do microbiota intestinal são um bom representante do ambiente individual, o que é útil para entender o risco de doença individual, a progressão da doença e o efeito do tratamento. Essas ferramentas estão agora a ser usadas em estudos com humanos e animais.¹⁸

Como mencionado, a microbiota intestinal pode ser alterada pelo uso de antibióticos, prebióticos, probióticos ou simbióticos (prebióticos e probióticos) administrados por médicos ou pais para melhorar os sintomas em crianças com PEA. Praticamente todas as funções GI postuladas como prejudicadas nesta doença, melhoraram com probióticos em estudos com animais.⁸

O transplante fecal foi proposto e testado para melhorar a deficiência neurológica e pode ser uma opção a longo prazo. A desvantagem é que esta abordagem também pode introduzir bactérias patogénicas no sistema intestinal do hospedeiro. O carvão ativado pode ser um adjuvante útil no tratamento de distúrbios do intestino sob a premissa de que ele irá unir-se a toxinas e produtos bacterianos. É pouco provável que este tratamento seja um tratamento sustentável a longo prazo no caso das PEA e distúrbios neurológicos crónicos.¹⁴

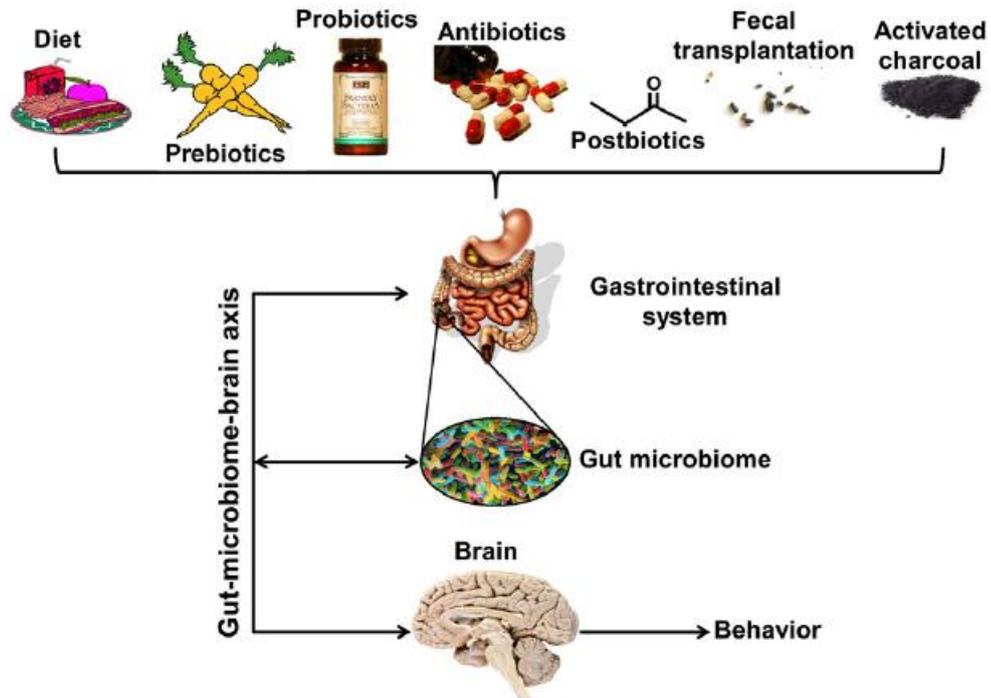


Figura 5. Diagrama de fatores terapêuticos que podem afetar o eixo microbiota-intestino-cérebro. As dietas podem afetar a disponibilidade de nutrientes disponíveis para a microbiota intestinal. Os probióticos podem colonizar o intestino e mudar as populações bacterianas dentro desse sistema para promover o crescimento de bactérias benéficas. Os antibióticos também foram propostos como um potencial tratamento das PEA mas, podem indiscriminadamente destruir bactérias benéficas e patogênicas.¹⁴

6. Conclusão

Independentemente da sequência de eventos que levam a um estado de disbiose, as alterações dos microrganismos intestinais afetam a comunicação bidirecional entre o intestino e o cérebro. Estas influências podem ocorrer no início da vida afetando o desenvolvimento do sistema nervoso e a interação do cérebro com o intestino.²¹

Indivíduos com PEA sofrem, muitas vezes, de sintomas GI e distúrbios da microbiota intestinal fazendo com que esta seja apontada como um provável colaborador das anormalidades comportamentais autistas.⁵ Embora existam evidências de uma associação entre essas anormalidades fisiopatológicas e as PEA, é necessária uma pesquisa adicional para definir como estas alterações do eixo microbiota-intestino-cérebro afetam o cérebro funcionalmente e estruturalmente e definir a relação exata entre essas anormalidades identificadas e esta doença.²⁶

A reposição do equilíbrio da microbiota intestinal, oferece efeitos terapêuticos benéficos promissores sobre os défices autistas resultando em melhorias dos sintomas.³

A heterogeneidade dos pacientes nos diferentes estudos em termos de idade, sintomas, dieta, tratamentos farmacológicos, a presença de problemas GI e interações familiares limitam a capacidade de comparar e sintetizar todos os dados para chegar a conclusões definitivas.¹³

De um modo geral, o desenvolvimento de tratamentos que visam distúrbios fisiopatológicos específicos tem potencial para proporcionar uma melhoria significativa na vida de crianças com PEA e suas famílias, no entanto, mais estudos são necessários para fornecer mais evidências que apoiam a eficácia desses tratamentos.^{3,26}

Bibliografia

1. FLOWERS, Stephanie A.; ELLINGROD, Vicki L. - The Microbiome in Mental Health: Potential Contribution of Gut Microbiota in Disease and Pharmacotherapy Management. **Pharmacotherapy**. . ISSN 18759114. 35:10 (2015) 910–916.
2. DINAN, Timothy G.; CRYAN, John F. - The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. **Gastroenterology Clinics of North America**. . ISSN 15581942. 46:1 (2017) 77–89.
3. HAN, Ying *et al.* - The Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorders. **Frontiers in Cellular Neuroscience**. . ISSN 1662-5102. 11:April (2017) 120.
4. MULLE, Jennifer G.; SHARP, William G.; CUBELLS, Joseph F. - The Gut Microbiome: A New Frontier in Autism Research. . ISSN 1523-3812. 15:2 (2013) 1–13.
5. LI, Q.; ZHOU, J. M. - The microbiota-gut-brain axis and its potential therapeutic role in autism spectrum disorder. **Neuroscience**. . ISSN 18737544. 324:March (2016) 131–139.
6. MANGIOLA, Francesca *et al.* - Gut microbiota in autism and mood disorders. **World Journal of Gastroenterology**. . ISSN 22192840. 22:1 (2016) 361–368.
7. ANGELIS, Maria DE *et al.* - Autism spectrum disorders and intestinal microbiota. **Gut Microbes**. . ISSN 19490984. 6:3 (2015) 207–213.
8. NAVARRO, Fernando; LIU, Yuying; RHOADS, Jon Marc - Can probiotics benefit children with autism spectrum disorders? **World Journal of Gastroenterology**. . ISSN 22192840. 22:46 (2016) 10093–10102.
9. CAO, Xinyi *et al.* - Characteristics of the gastrointestinal microbiome in children with autism spectrum disorder: a systematic review. **Shanghai archives of psychiatry**. . ISSN 1002-0829. 25:6 (2013) 342–53.
10. LUNA, Ruth Ann; SAVIDGE, Tor C.; WILLIAMS, Kent C. - The Brain-Gut-Microbiome Axis: What Role Does It Play in. 3:1 (2017) 75–81.
11. GHASIAS, Shivani; MAHER, Joshua; KANTHASAMY, Anumantha - HHS Public Access. 2017) 52–62.
12. LATALOVA, Klara; HAJDA, Miroslav; PRASKO, Jan - Can gut microbes play a role in mental disorders and their treatment? **Psychiatria Danubina**. . ISSN 03535053. 29:1 (2017) 28–30.
13. ZHU, Xiqun *et al.* - Microbiota-gut-brain axis and the central nervous system. **Oncotarget**. . ISSN (2017). 1949-2553.
14. ROSENFELD, Cheryl S. - Special Section on Drug Metabolism and the Microbiome—Perspective Microbiome Disturbances and Autism Spectrum Disorders. **DRUG METABOLISM AND DISPOSITION Drug Metab Dispos**. . ISSN 1521009X. 43:October (2015) 1557–1571.
15. QUIGLEY, Eamonn M. M. - Basic Definitions and Concepts: Organization of the Gut Microbiome. **Gastroenterology Clinics of North America**. . ISSN 15581942. 46:1 (2017) 1–8.
16. TILLISCH, Kirsten - The effects of gut microbiota on CNS function in humans. **Gut Microbes**. . ISSN 19490984. 5:3 (2014) 404–410.

17. BORRE, Yuliya E. *et al.* - Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. **Trends in molecular medicine**. . ISSN 1471499X. 20:9 (2014) 509–518.
18. WANG, Hong Xing; WANG, Yu Ping - Gut microbiota-brain axis. **Chinese Medical Journal**. . ISSN 03666999. 129:19 (2016) 2373–2380.
19. YARANDI, Shadi S. *et al.* - Modulatory effects of gut microbiota on the central nervous system: How gut could play a role in neuropsychiatric health and diseases. **Journal of Neurogastroenterology and Motility**. . ISSN 20930887. 22:2 (2016) 201–212.
20. BIENENSTOCK, John; KUNZE, Wolfgang; FORSYTHE, Paul - Microbiota and the gut-brain axis. **Nutrition reviews**. . ISSN 17534887. 73:(2015) 28–31.
21. MAYER, Emeran A; TILLISCH, Kirsten; GUPTA, Arpana - Gut / brain axis and the microbiota. **The Journal of Clinical Investigation**. . ISSN 0021-9738. 125:3 (2015) 926–938.
22. Lyte, M., Varcoe, J. J., & Bailey, M. T. (1998). Anxiogenic effect of subclinical bacterial infection in mice in the absence of overt immune activation. *Physiology and Behavior*, 65(1), 63–68.
23. STRATI, Francesco *et al.* - New evidences on the altered gut microbiota in autism spectrum disorders. **Microbiome**. . ISSN 2049-2618. 5:1 (2017) 24.
24. BRAUN, Jonathan - Tightening the Case for Gut Microbiota in Autism-Spectrum Disorder. **CMGH Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology**. . ISSN 2352345X. 3:2 (2017) 131–132.
25. LIM, Joon Seo *et al.* - Modeling environmental risk factors of autism in mice induces IBD-related gut microbial dysbiosis and hyperserotonemia. **Molecular Brain**. . ISSN 1756-6606. 10:(2017) 1–12.
26. FRYE, Richard E.; ROSSIGNOL, Daniel A. - Identification and Treatment of Pathophysiological Comorbidities of Autism Spectrum Disorder to Achieve Optimal Outcomes. **Clinical medicine insights. Pediatrics**. . ISSN 1179-5565. 10: (2016) 43–56.