

Júlia Micaela Pereira da Silva Albuquerque

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Doenças Inflamatórias Intestinais: Qual a Importância da Microbiota?” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Sofia Pereira, da Dra. Dina Lopes e da Professora Doutora Leonor Almeida e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

How Your Gut Health is Linked With Your Prostate Health - [Consultado a 4 set. 2018]. Disponível na Internet: <http://www.bensprostate.com/how-your-gut-health-is-linked-with-your-prostate-health/>.

MATTOSAURUS - Diverse e Coli - Wikimedia Commons, atual. 2009. [Consultado a 4 set. 2018]. Disponível em: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Diverse\\_e\\_Coli.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Diverse_e_Coli.png).

Júlia Micaela Pereira da Silva Albuquerque

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada: "Doenças inflamatórias intestinais: qual a importância da microbiota?", referentes à unidade "Estágio Curricular", sob orientação da Dra. Dina Lopes, Dra. Sofia Pereira e Professora Doutora Leonor Almeida e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Setembro de 2018



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Júlia Micaela Pereira da Silva Albuquerque, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o número 2013152710, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "Doenças inflamatórias intestinais: qual a importância da microbiota?" apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade 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, 05 de setembro de 2018

  
\_\_\_\_\_

“No man is an island,  
Entire of itself,  
Every man is a piece of the continent,  
A part of the main. (...)  
Any man's death diminishes me,  
Because I am involved in mankind”  
— John Donne

## **Agradecimentos**

Aos meus pais, à minha irmã e ao resto da minha família, estou agradecida pelo seu apoio incondicional, por me compreenderem nas indecisões, por me ajudarem nas dificuldades, por me motivarem nos momentos desafiantes e por estarem presentes sempre que precisei.

Aos meus amigos que, ao longo dos 5 anos de curso, perdoaram as minhas ausências e sempre se esforçaram por manter o contacto à distância. Obrigada por todos os momentos incríveis e pelas memórias inesquecíveis.

Aos meus antigos colegas de casa que, embora já não contacte com tanta frequência, foram uma presença fundamental no meu percurso. Por tornarem todos os dias uma aventura, por me ouvirem, por me ensinarem, por serem uma segunda família e me fazerem sentir verdadeiramente aceite, um obrigado do tamanho do mundo. A vossa amizade foi uma prenda com que Coimbra me surpreendeu e me encantou.

Aos amigos que ganhei no MICF, incluindo a minha afilhada de curso, desejo todo o sucesso e agradeço as experiências partilhadas, que guardarei com carinho, de uma etapa da minha vida onde cresci imenso graças às pessoas incríveis que me rodearam, às suas histórias, às suas vozes, aos seus sorrisos. Sei que o término do curso criará distância entre nós, mas o vosso impacto perdurará na minha vida futura. Adorei conhecer-vos e espero que os tempos que passámos juntos sejam tão preciosos para vós como são para mim.

Quero agradecer à equipa da Farmácia Nova, por serem exemplo de excelência e de profissionalismo em farmácia comunitária, e por toda a consideração e simpatia com que me acolheram. Embora tenha sido uma breve experiência, foi repleta de lições que levarei comigo para a minha vida profissional.

Também agradeço aos gestores do INFARMED, I.P que em muito me apoiaram e me mostraram quão interessante é a área regulamentar.

Por fim, agradeço a todos os professores da FFUC com quem tive o prazer de contactar ao longo do curso, em especial à Professora Doutora Leonor Almeida, cujas cativantes aulas em Bioquímica Clínica me conquistaram e me impeliram a pedir como orientadora. Agradeço todas as palavras de simpatia, as correções, as sugestões e a paciência demonstrada ao longo da produção desta monografia.

## Índice

Parte I .....	10
Relatório de Estágio Curricular em Assuntos Regulamentares do Medicamento no INFARMED, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.....	10
Lista de Abreviaturas .....	11
Introdução .....	12
INFARMED, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. ....	13
Análise SWOT .....	14
Pontos Fortes - <i>Strengths</i> .....	15
1. Acolhimento e integração na equipa.....	15
2. Tarefas desenvolvidas .....	15
3. Desenvolvimento de competências e aquisição de conhecimentos.....	17
4. Perspetiva privilegiada sobre a área regulamentar e atividade farmacêutica.....	17
Pontos Fracos - <i>Weaknesses</i> .....	18
1. Vasto leque de plataformas/sistemas de gestão.....	18
2. Duração do estágio .....	19
3. Rotação entre gestores de apoio ao estágio.....	19
Oportunidades - <i>Opportunities</i> .....	19
1. Reunião da Comissão de Avaliação de Medicamentos.....	19
2. Visita guiada ao Laboratório do Infarmed.....	20
Ameaças - <i>Threats</i> .....	20
1. Pressão pelos requerentes .....	20
Considerações Finais .....	22
Bibliografia .....	23
Anexos .....	24
Lista de Abreviaturas .....	28
Introdução .....	29
Análise SWOT .....	30
Pontos Fortes ( <i>Strengths</i> ) .....	31
1. Formação do MICF.....	31
2. Localização da farmácia .....	31
3. Receção e apoio pela equipa.....	31
4. Variedade de funções desempenhadas .....	32
a. Gestão de encomendas e de <i>stocks</i> .....	32
b. Atendimento de utentes.....	32
c. Funções variadas.....	33
5. Ortopedia .....	34

6. Cashguard e 4DigitalCare.....	34
7. Dinamização constante.....	35
8. Serviços prestados pela farmácia .....	35
Pontos Fracos ( <i>Weaknesses</i> ) .....	36
1. Insegurança e hesitação no aconselhamento.....	36
2. Duração do estágio .....	36
3. Aconselhamento de determinados produtos.....	37
4. Acompanhamento farmacoterapêutico, conferência de receituário, preparação de manipulados.....	37
Oportunidades ( <i>Opportunities</i> ).....	37
1. Formação contínua.....	37
2. Dispensa ao domicílio.....	38
3. Acordos com lares e fundações.....	38
Ameaças ( <i>Threats</i> ).....	38
1. Flutuações de preços, rotura de <i>stocks</i> e retirada de lotes de medicamentos do mercado: impacto na atitude do utente.....	38
Casos Práticos.....	40
Considerações Finais .....	41
Bibliografia .....	42
Parte III:.....	43
Doenças Inflamatórias Intestinais: qual a importância da microbiota?.....	43
Resumo .....	45
Introdução.....	46
Doenças inflamatórias intestinais: caracterização.....	47
Microbiota .....	47
A disbiose nas doenças inflamatórias intestinais .....	48
Patobiontes.....	50
Limitações dos modelos animais das doenças inflamatórias intestinais.....	52
Doenças inflamatórias intestinais: fatores de risco genéticos e a microbiota.....	52
1. NOD2.....	53
2. Mucina 2.....	54
3. Os genes da autofagia .....	55
4. PTPN2 e PTPN22.....	56
Doenças inflamatórias intestinais: fatores de risco ambientais.....	57
1. Tabagismo e cessação tabágica.....	58
2. Vitamina D e dieta.....	58
3. Fármacos anti-inflamatórios não esteróides, contraceptivos orais combinados e antibióticos ..	60



4. Higiene, poluição, stresse .....	60
A microbiota nas doenças inflamatórias intestinais.....	61
1. Função barreira do epitélio intestinal, células caliciformes e células de Paneth.....	61
2. Detecção de bactérias e resposta imune.....	62
a. Linfócitos T-reguladores.....	62
b. ILCs, Th17, IL23.....	64
3. Metabolismo microbiano e o impacto dos seus metabolitos nas doenças inflamatórias intestinais.....	66
4. Diagnóstico com base nas alterações da microbiota .....	68
5. Terapêuticas baseadas na manipulação da microbiota.....	68
a. Transplantação de microbiota fecal.....	69
b. Probióticos e prebióticos .....	69
c. Nutrição exclusivamente entérica.....	70
Considerações Finais .....	72
Bibliografia .....	73

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1:</b> Quadro-resumo da análise SWOT ao estágio curricular no INFARMED, I.P.....	14
<b>Tabela 2:</b> Quadro-resumo da análise SWOT ao estágio curricular na Farmácia Nova.....	30
<b>Tabela 3:</b> Espécies potencialmente inflamatórias e potencialmente protetoras nas DII em humanos.....	48
<b>Tabela 4:</b> Espécies microbianas associadas a subgrupos da população com risco de DII ou com doença ativa.....	68

## Índice de Figuras

<b>Figura 1:</b> O papel de bactérias protetoras e patogénicas da microbiota intestinal nas DII...	50
<b>Figura 2:</b> Heterogeneidade dos genes cujas mutações estão associadas a risco de DII.....	53
<b>Figura 3:</b> As células linfoides inatas promovem inflamação e imunidade inata.....	65
<b>Figura 4:</b> Possível papel do metabolismo da microbiota nas DII.....	67

## Parte I

# Relatório de Estágio Curricular em Assuntos Regulamentares do Medicamento no INFARMED, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.



Edifício-sede do INFARMED, I.P.

Orientado pela da Dr.<sup>a</sup> Dina Lopes

## Lista de Abreviaturas

- AIM** - Autorização de Introdução no Mercado  
**CAM** - Comissão de Avaliação de Medicamentos  
**CEP** - *Certificate of Suitability*  
**CTD** - *Common Technical Document*  
**CTS** - *Communication Tracking System*  
**DAM** - Direção de Avaliação de Medicamentos  
**DC** - Processo Descentralizado  
**EDQM** - *European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare*  
**EMA** - Agência Europeia de Medicamentos  
**EME** - Estado-Membro Envolvido  
**EMR** - Estado-Membro de Referência  
**EPAR** - *European Public Assessment Report*  
**FFUC** - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra  
**FI** - Folheto Informativo  
**GMP** - *Good Manufacture Practices*  
**IF** - Indústria Farmacêutica  
**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências farmacêuticas  
**MNSRM** - Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica  
**OMCL** - Laboratórios Oficiais de Controlo de Medicamentos  
**PAR** - Relatório Público de Avaliação  
**PSUR** - *Periodic Safety Update Reports*  
**QP** - Pessoa Qualificada  
**QRD** - *Quality Review of Documents*  
**RCM** - Resumo das Características do Medicamento  
**RM** - Reconhecimento Mútuo  
**ROT** - Rotulagem  
**SWOT** - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*  
**UEC** - Unidade de Ensaio Clínicos  
**UAC** - Unidade de Avaliação Científica  
**UIM** - Unidade de Introdução no Mercado  
**UMM** - Unidade de Manutenção no Mercado

## **Introdução**

No quinto ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas os estudantes realizam um estágio curricular em farmácia comunitária e, opcionalmente, um ou mais estágios adicionais noutras áreas da atividade farmacêutica. Enquanto aluna da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), foi-me proporcionada a oportunidade de usufruir da unidade curricular de Assuntos Regulamentares do Medicamento, e quer pela matéria quer pelo modo como as aulas foram lecionadas, ganhei um interesse na área que me levou a escolher um estágio curricular no INFARMED, I.P.

Ao experienciar as diferentes vertentes da área farmacêutica, descritas no ato farmacêutico,<sup>1</sup> é possível confirmar gostos e aptidões e adquirir formação e experiência prática que potencialmente auxiliam na futura carreira. Deste modo, considero positivo que a FFUC permita a realização de estágios em outras áreas que não a farmácia hospitalar. Dentro do Infarmed optei pela Direção de Avaliação de Medicamentos pelo facto das suas tarefas incidirem nos procedimentos necessários ao registo e avaliação de pedidos de introdução de medicamentos no mercado.

O estágio no Infarmed, com sede no Parque de Saúde de Lisboa, teve a duração de 3 meses, de 2 de maio a 31 de julho, e decorreu sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Dina Lopes.

Neste relatório consta a minha análise resumida dos pontos fortes e fracos, das oportunidades e das ameaças relativas ao estágio realizado, segundo o modelo de análise SWOT.

**INFARMED, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.**

O Infarmed consiste num instituto público fundado em 1993 que regula e supervisiona os setores dos medicamentos e produtos de saúde (dispositivos médicos, cosméticos), nomeadamente a investigação, controlo da sua produção, comercialização, distribuição e utilização, garantindo a sua segurança e qualidade para acesso por profissionais de saúde e população em geral. Embora opere sob tutela do Ministério da Saúde, possui autonomia administrativa e financeira, além de possuir património próprio, pelo que mantém alguma independência do estado. Adicionalmente, o Infarmed "integra e participa nos comités, comissões e grupos de trabalho do Conselho da União Europeia, da Comissão Europeia e da Agência Europeia de Medicamentos"<sup>2</sup> (EMA), articulando-se com estas instituições na avaliação e supervisão dos medicamentos de uso humano e produtos de saúde.

A Direção de Avaliação de Medicamentos (DAM) é uma das unidades orgânicas que compõem o Infarmed (consultar organograma, Anexo 3), sendo responsável pelo registo, avaliação e gestão de procedimentos de autorização de introdução no mercado, incluindo a sua manutenção, relativa a medicamentos de uso humano e produtos de saúde. Esta atividade estende-se a procedimentos comunitários com Portugal como estado-membro de referência ou estado-membro envolvido. A DAM também exerce atividade nas áreas da autorização da condução dos ensaios clínicos e seu controlo e monitorização, avaliação e autorização de pedidos de utilização especial, entre outras. Para tal, a DAM subdivide-se em 4 subunidades orgânicas consoante a área de intervenção, nomeadamente a Unidade de Ensaio Clínicos (UEC), Unidade de Introdução no Mercado (UIM), Unidade de Manutenção no Mercado (UMM), e a subunidade transversal Unidade de Avaliação Científica (UAC). A UIM, onde o meu estágio se integrou, assegura as atividades associadas ao registo e autorização para introdução de medicamentos no mercado, à autorização de utilização especial e excecional e importações paralelas.<sup>3,4</sup>

A Dr.<sup>a</sup> Marta Marcelino exerce a dupla função de diretora da DAM e da UIM.

## Análise SWOT

A análise SWOT consiste numa ferramenta de análise estruturada e sistemática quer a componentes internos (Pontos Fortes e Fracos) quer externos (Oportunidades e Ameaças), permitindo identificar cenários e planear posições estratégicas. Em suma, permite fazer uma autoanálise ao desempenho com vista ao desenvolvimento e melhoria contínuas.

**Tabela I:** Quadro-resumo da análise SWOT ao estágio curricular no INFARMED, I.P.

		<b>Pontos Fortes (Strengths)</b>	<b>Pontos Fracos (Weaknesses)</b>
<b>Análise Interna</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Acolhimento e integração na equipa</li> <li>▪ Tarefas desenvolvidas</li> <li>▪ Desenvolvimento de competências e aquisição de conhecimentos</li> <li>▪ Perspetiva privilegiada sobre a área regulamentar e atividade farmacêutica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Vasto leque de plataformas/sistemas de gestão</li> <li>▪ Duração do estágio</li> <li>▪ Rotação entre gestores de apoio ao estágio</li> </ul>
		<b>Oportunidades (Opportunities)</b>	<b>Ameaças (Threats)</b>
<b>Análise Externa</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Reunião da Comissão de Avaliação de Medicamentos</li> <li>▪ Visita guiada ao Laboratório do Infarmed</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Pressão pelos requerentes</li> </ul>

## **Pontos Fortes - Strengths**

### **1. Acolhimento e integração na equipa**

A receção ao estágio curricular no INFARMED, I.P. iniciou-se com uma apresentação geral da sua missão, funções e estrutura e organização dos diferentes órgãos constitutivos. Em sucessivas reuniões foi abordado com maior pormenor a área da regulamentação em medicamentos, com referência ao ciclo do medicamento, tipos de pedidos de autorização de introdução no mercado (AIM), manutenção e alterações destas autorizações e outras informações fundamentais à realização do estágio, muitas destas lecionadas na unidade curricular de Assuntos Regulamentares, no MICF.

Já na DAM, a formação foi mais específica às funções a desempenhar. Foi feita uma revisão de conceitos sobre tipos de pedidos de AIM, bases legais, estrutura do *Common Technical Document* (CTD), diferenças entre processos nacionais, centralizados, descentralizados (DC) e reconhecimento mútuo (RM) e o calendário dos dois últimos. Foi explicado que o estágio estaria integrado na Unidade de Introdução no Mercado (UIM), mais especificamente nos processos nacionais e na fase nacional dos processos DC e RM. Foram apresentadas as plataformas informáticas GestProc, Gimed, SMUH e CTD, cada uma com interfaces distintos e funções específicas. Tal como aos colaboradores do Infarmed, foi dado um número mecanográfico pessoal e único que permitiu a identificação e o acesso às bases de dados e plataformas necessárias para o exercício das atividades diárias.

Para além da rica formação inicial, ao longo do estágio foi prestado um grande apoio pelos gestores da DAM, que para além acompanharem os processos com que trabalhei, resolveram as dúvidas que iam surgindo, explicando o funcionamento da DAM, os procedimentos internos, dando dicas sobre como comunicar com os requerentes e alertando para pontos-chave na análise à documentação por estes submetida.

Deste modo, houve um apoio contínuo mas não excessivo que permitiu, por um lado, saber como proceder corretamente, mas simultaneamente ter a autonomia para aprender por mim mesma e, eventualmente, desenvolver confiança nas funções que desempenhava.

### **2. Tarefas desenvolvidas**

No UIM são analisados e avaliados os pedidos de AIM quer por processos DC e RM, quer como os processos nacionais. No meu estágio não lidei com processos DC em que Portugal é estado-membro de referência (EMR).

Desempenhei funções variadas, sempre com o objetivo de finalizar pedidos e conceder as AIM aos requerentes ou aos titulares de AIM. A finalização de pedidos de AIM requer a análise do nome proposto para o medicamento a ser autorizado, que deve seguir a norma orientadora para aceitação de nomes de medicamentos<sup>5</sup>. Com o vasto número de medicamentos e suplementos alimentares quer no mercado português, quer no mercado europeu, e pela importância do nome na imagem do medicamento especialmente em medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), esta avaliação deve ser rigorosa.

Também deve ser feita a análise do folheto informativo (FI), rotulagem (ROT) e do resumo das características do medicamento (RCM), que varia consoante a "base legal" do medicamento. Exemplifique-se que num medicamento genérico estes textos devem ser semelhantes aos do medicamento considerado como referência. Para revisão destes textos é utilizado o *Quality Review of Documents (QRD)*, que indica ponto-a-ponto as informações que devem constar em cada um dos textos referidos, permitindo uma harmonização na linguagem e formato que facilita a compreensão quer pelos profissionais de saúde, quer pelos doentes. O Relatório Público de Avaliação (PAR), EPAR a nível da União Europeia, é um documento que condensa informação essencial do medicamento, tendo elaborado vários para os processos nacionais com que contactei. RCM, FI, ROT e PAR são publicados no site Infomed após concessão da AIM ao medicamento.

Também analisei os CTD submetidos pelos requerentes, analisando a documentação crucial à finalização do processo como é o caso dos *Certificate of Suitability (CEP)* atualizados (Anexo 4), certificado de *Good Manufacture Practices (GMP)* fornecido por uma entidade apropriada (não são aceitáveis GMP concedidas por entidades fora do espaço económico europeu), declaração da Pessoa Qualificada (QP) relativa ao cumprimento das GMP, contacto de QP responsável pela farmacovigilância em Portugal, cadeia de produção devidamente atualizada e outros documentos. Há situações específicas que podem requerer a análise de documentação adicional. Por exemplo, a transferência de titular de AIM requer vários comprovativos com assinatura e concordância do presente e do futuro titular de AIM, e uma situação de reutilização de nome do medicamento requer uma declaração de não comercialização enquanto não esgotar o *stock* do medicamento com o mesmo nome.

Outra função desempenhada foi o completar de bases de dados (Gimed e GestProc) por consulta ao CTD e, no caso de DC e RM, consulta também do CTS.

Foi fundamental a consulta do SMUH-alter, uma plataforma onde constam as alterações pedidas, em avaliação, negadas e autorizadas, uma vez que os processos de AIM são dinâmicos e é necessário atentar ao estado da arte para não incorrer em erros. Por



exemplo, pode ser necessário contemplar alterações no RCM ou FI decorrentes de *Periodic Safety Update Reports (PSURs)* publicados publicamente pela EMA.

As tarefas foram as mesmas ao longo de todos os processos com que contactei. No entanto, todos os processos foram distintos, suscitando diferentes questões e seguindo diferentes percursos para obtenção da AIM.

### **3. Desenvolvimento de competências e aquisição de conhecimentos**

Ao longo do estágio no Infarmed foi possível alargar os meus conhecimentos na área regulamentar do medicamento, aprofundando aquilo que já sabia, e adquirir novos conhecimentos através do contacto com situações práticas. Os processos em contexto real são complexos e obrigam ao interligar de conceitos, com situações no limite daquilo que a legislação regula, e que devem ser avaliadas sempre com atenção ao potencial risco para a saúde. Fiquei a compreender melhor a organização do CTD (consultar o Anexo 5), os tipos de "bases legais" e o papel de cada estado-membro envolvido (EME) nos processos DC e RM.

Ao realizar tarefas autonomamente, sinto que o estágio contribuiu para a minha autonomia e autoconfiança, e desenvolveu a minha capacidade de tomar decisões. Ao cometer erros, aprendi e melhorei a minha prática, resultando em ganhos na eficácia e qualidade das minhas análises dos processos.

Adquiri capacidade de síntese e argumentativa, uma vez que por vezes tive de justificar decisões tomadas sobre os processos ao meu cargo, e melhorei a minha comunicação e vocabulário.

Uma vez que grande parte da documentação e das plataformas/bases de dados estão em inglês, posso afirmar que consolidei o meu vocabulário inglês relativo à área regulamentar e também sobre o medicamento em geral, inclusive por contacto telefónico e via *email* com os requerentes e titular de AIM.

Todos estes conhecimentos e capacidades adquiridas serão uma mais-valia para um futuro trabalho na área regulamentar da indústria farmacêutica.

### **4. Perspetiva privilegiada sobre a área regulamentar e atividade farmacêutica**

O Infarmed é um local de estágio privilegiado para compreender todo o processo de um pedido de AIM, sendo possível seguir desde o seu pedido inicial, os elementos que foram sendo solicitados e os calendários e os tempos de resposta. Ao contactar diariamente com a indústria farmacêutica foi possível observar o seu método de trabalho, e o modo como este varia para cada empresa, algumas com longos tempos de resposta e outras com imediata

resposta.

Ao ter acesso a informação diretamente fornecida pela EMA, foi possível ter uma melhor perceção do funcionamento desta agência e da sua relação com os estados que a integram. Destaco o caso da recente retirada de certos lotes de valsartan do mercado<sup>6</sup>, em que acompanhei os desenvolvimentos através das informações que a EMA providenciava ao Infarmed e às restantes agências do medicamento europeias, notando a rápida e organizada resposta ao potencial risco para a saúde. Este evento reforçou a minha confiança na agência e na própria indústria farmacêutica (IF), uma vez que foi a própria indústria a dar o alerta. No caso do Infarmed, há uma relação de 1:1 com a IF, permitindo uma rápida e eficaz troca de informações que contribui para a segurança e qualidade dos medicamentos autorizados.

## **Pontos Fracos - Weaknesses**

### **I. Vasto leque de plataformas/sistemas de gestão**

Ao longo do estágio foi necessário aprender a trabalhar em vários sistemas de gestão e bases de dados.

O Gimed possui a informação resumida do medicamento, como o número do processo, data e tipo do pedido de AIM, componentes do produto acabado, materiais de acondicionamento, data de validade, cadeia de produção, contacto de farmacovigilância e outras informações que tive de verificar e preencher em cada processo.

Já o GestProc serve para informações sobre o decorrer do processo no Infarmed, contendo datas de determinadas fases fundamentais, um registo dos avaliadores e gestores associados, e a evolução do estado do processo. O seu *design* antiquado dificulta a sua manipulação e compreensão.

O *Communication Tracking System* (CTS) é um sistema de comunicação entre EMEs e EMR em processos comunitários e possui variadas funcionalidades. Não trabalhei o suficiente com o CTS para poder avaliar a sua funcionalidade, mas pareceu-me que o *design* e a usabilidade eram satisfatórios.

Face ao variado número de plataformas, seria mais prático criar uma só plataforma integrada, com GestProc, Gimed, SMUH-alter. Compreendendo que o Infarmed tem limitados recursos financeiros e tecnológicos, derivados pelo menos parcialmente da recente crise económica, mas creio que este desafio à produtividade deveria ser priorizado, uma vez que as operações do Infarmed dependem fundamentalmente dos recursos humanos e recursos tecnológicos.

## **2. Duração do estágio**

A curta duração do estágio não permitiu o contacto com certos tipos de processos, menos comuns, que seriam uma mais-valia na aprendizagem. Seria necessário mais tempo para executar determinadas tarefas que, por não estar ainda familiarizada com a DAM, não em foi permitido realizar, já que apenas contactava com processos em finalização de AIM e há muitas outras fases do processo em que seria possível exercer funções. Porém, os 3 meses foram o suficiente para adquirir uma visão abrangente quer da funcionalidade da DAM, quer do papel do Infarmed como autoridade do medicamento.

## **3. Rotação entre gestores de apoio ao estágio**

Durante o estágio tive a oportunidade de ser apoiada por diversas gestoras de processos que acompanhavam o meu progresso e resolviam as minhas questões à medida que surgiam. No entanto, o facto de não ser constantemente apoiada por uma só pessoa dificultou o meu progresso nalgumas situações específicas, já que cada gestora tinha certas preferências e métodos de trabalho ligeiramente distintos, pelo que ocasionalmente tive a necessidade de reajustar algumas partes do trabalho já realizado. Devo, porém, referir que tal foi positivo na medida em que cada gestora se focava em diferentes aspetos e me corrigia em diferentes áreas, reforçando o rigor em todas as partes do trabalho desenvolvido.

## **Oportunidades - *Opportunities***

### **I. Reunião da Comissão de Avaliação de Medicamentos**

Considero muito positiva a possibilidade que me foi dada de assistir à reunião da Comissão de Avaliação de Medicamentos (CAM) do dia 31 de julho.

Nas CAMs há participação de avaliadores de diferentes áreas (peritos internos e externos), como médicos e farmacêuticos, que apresentam a sua opinião e discutem processos em avaliação que podem, ou não, apresentar entraves ao seu decorrer normal. Dependendo das conclusões das CAMs, podem haver pedidos de elementos aos requerentes, deixando o processo dependente da sua resposta. Por exemplo, se for detetada alguma inconformidade nos estudos de biodisponibilidade/bioequivalência, o avaliador farmacêutico, responsável por avaliar a qualidade do medicamento, pode elaborar um parecer negativo até que o requerente forneça os elementos solicitados pelo avaliador. Após receção destes elementos, o avaliador verifica se a questão é ou não resolvida, e o processo vai a CAM novamente.<sup>7</sup> Nos processos com que trabalhei tive a oportunidade de

observar vários pedidos de elementos, a justificação destes pedidos e as respostas dos requerentes. Ao assistir à CAM consegui interligar as funções dos gestores e aquelas que me foram inculcadas às funções dos avaliadores, e melhor compreender o processo de avaliação de pedidos de AIM de medicamentos humanos, e a sua manutenção e renovação.

## **2. Visita guiada ao Laboratório do Infarmed**

O Laboratório do Infarmed pertence à rede de Laboratórios Oficiais de Controlo de Medicamentos (OMCL), que é coordenada pela EDQM (*European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare*) e tem como propósito a partilha de informação e recursos entre as várias agências europeias, para melhor harmonização e otimização. Por exemplo, ao especializar-se em determinadas áreas, o Laboratório do Infarmed realiza controlos e testes rigorosos em determinadas vertentes com elevado rigor e validação, não havendo necessidade de estes serem realizados noutros laboratórios europeus.

Adicionalmente, o Laboratório do Infarmed tem competência técnica reconhecida pelo MJA, Programa de Auditorias de Reconhecimento Mútuo, do EDQM.

A visita ao laboratório foi muito didática, permitindo observar o tipo de equipamento e as dimensões do laboratório, assim como a organização geral da equipa do laboratório, distribuída entre a área da microbiologia e a química. Também pude constatar o trabalho desenvolvido na deteção de medicamentos contrafeitos e falsificados, observando exemplos de medicamentos analisados no laboratório, muitos dos quais vendidos pela internet e retidos nas alfândegas de aeroportos. Estas atividades integram-se nos esforços concertados da rede OMCL no combate a medicamentos falsificados.

## **Ameaças - Threats**

### **1. Pressão pelos requerentes**

Por vezes houve situações que prolongaram os tempos na conclusão de processos. Nestas circunstâncias, foi comum ser contactada pelo requerente para informar sobre o ponto de situação, como que pressionando para o avançar do processo. No entanto, pela importância das funções do Infarmed e pelo seu papel como autoridade, não é possível ceder a estas pressões sem que as situações estejam plenamente resolvidas. Como exemplo, o nome do medicamento gera, ocasionalmente, tempos prolongados na finalização do processo. Como já mencionei, o nome do medicamento é muito importante para as empresas, mas por motivos de segurança pública há orientações na escolha do nome que devem ser seguidas. Torna-se importante a comunicação direta, sucinta e bem-argumentada

para maior eficácia e menor tempo na finalização de processos, tempo este que é precioso às empresas. Deste modo, é exercida pressão para a finalização de processos e cheguei a sentir necessidade de trabalhar mais rapidamente. No entanto, é mais importante a segurança de fazer uma análise detalhada do que a rapidez com que o processo é finalizado.

Pelo substancial volume de processos com que a DAM tem de trabalhar, e com recursos humanos limitados, a rapidez de conclusão de processos é um fator crítico, porém a primazia é dada à qualidade, já que a missão do Infarmed se prende com a promoção da saúde pública.

No futuro, caso trabalhe na IF, é provável sentir a competitividade e a pressão para rapidamente concluir os pedidos de AIM. Admitindo que nalgumas situações zelei excessivamente pelo pormenor, e noutras situações a primazia pela rapidez comprometeu o rigor, terei de desenvolver a capacidade de conjugar a rapidez com resultados de qualidade.

## **Considerações Finais**

Para além de uma enriquecedora experiência em contexto real de trabalho, o estágio no Infarmed confirmou e fomentou o meu interesse na área regulamentar do medicamento. Ao seguir vários processos de finalização de AIM, ao deparar-me com situações variadas que despertaram questões concernentes e exigiram decisões justificadas, consegui evoluir não só no meu papel enquanto estagiária na autoridade do medicamento, mas também como futura profissional na área farmacêutica. Os conhecimentos e as competências adquiridas serão certamente uma mais-valia no meu futuro profissional, mesmo fora da área regulamentar pois algumas das competências desenvolvidas são universais ao mundo do trabalho.

O apoio prestado pelos vários gestores da UIM foi fundamental à minha aprendizagem. O seu cuidado, as suas explicações e correções e a sua simpatia e profissionalismo tornaram o estágio acolhedor, fomentando um ambiente produtivo.

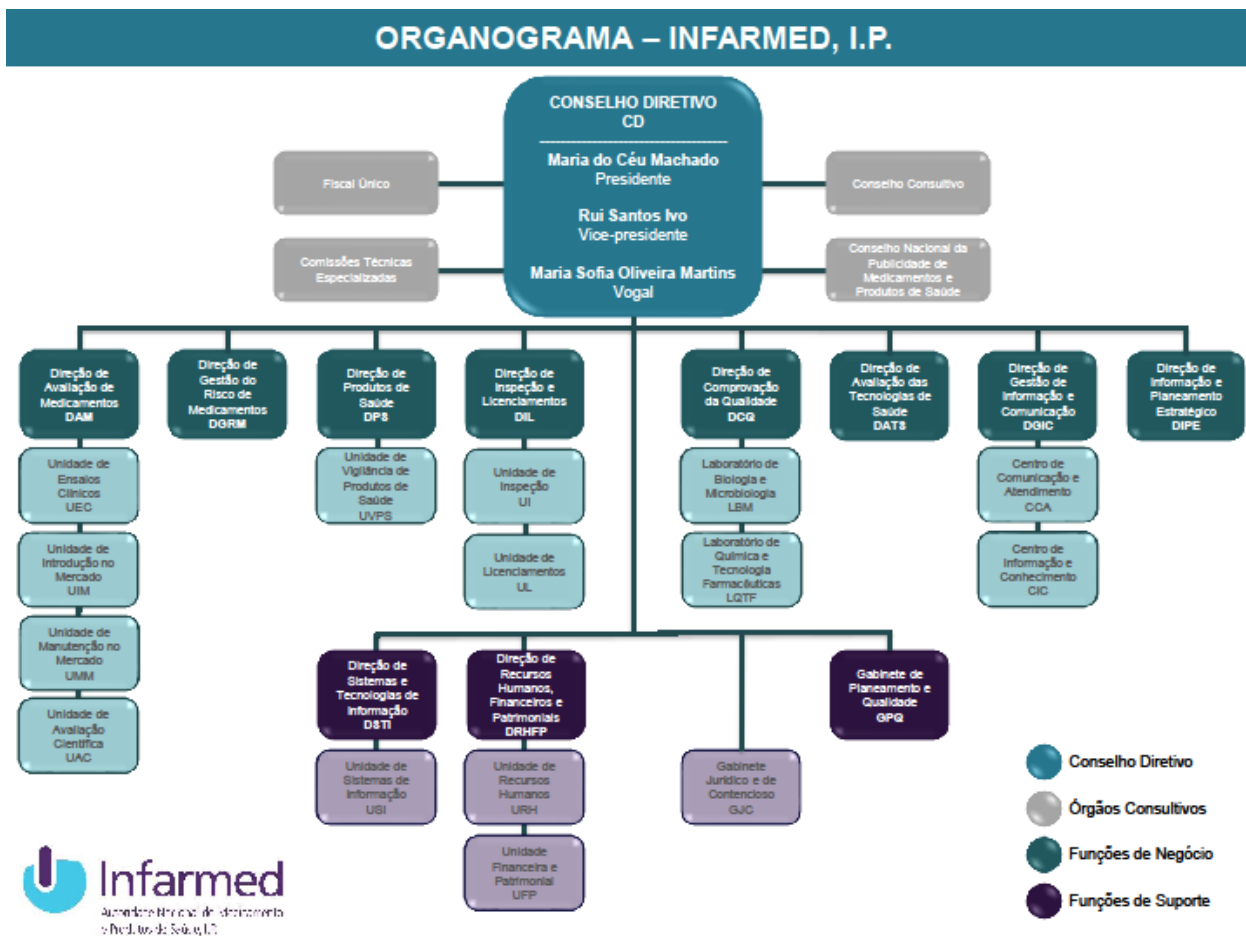
Este estágio foi uma experiência fundamental ao meu percurso académico, onde pude aplicar conhecimentos adquiridos nas aulas e aplicar a situações reais, e pude adquirir uma visão global da atividade farmacêutica em Portugal e do ciclo do medicamento. Deste modo, o estágio servirá de ponte entre o percurso académico que termino, e o percurso profissional que iniciarei.

## **Bibliografia**

- 1 – **Decreto-Lei n.º 288/2001 de 10 de novembro. Diário da República n.º261/2001 – I Série A.** Ministério da Saúde. Lisboa. [Consultado a 13 ago. 2018]
- 2 – **Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (INFARMED), I.P – SNS.** - [Consultado a 13 ago. 2018] Disponível em: <https://www.sns.gov.pt/entidades-de-saude/infarmed-autoridade-nacional-do-medicamento-e-produtos-de-saude-ip/>
- 3 – **Portaria n.º 267/2012 de 31 de agosto. Diário da República n.º 169/2012 - Série I.** Ministérios das Finanças e da Saúde. Lisboa. [Consultado a 13 ago. 2018]
- 4 – **Portaria n.º 306/2015 de 23 de setembro. Diário da República n.º 186/2015, Série I.** - Ministério da Saúde. Lisboa. [Consultado a 13 ago. 2018]
- 5 – **Deliberação n.º 144/CD/2012 de 8 de novembro. Ata n.º 46.** Conselho Diretivo, INFARMED, I.P. Lisboa. [Consultado a 13 ago. 2018]
- 6 – **Circular Informativa n.º 096/CD/550.20.001 de 4 de julho de 2018** - Conselho Diretivo, INFARMED, I.P. Lisboa. [Consultado a 13 ago. 2018] Disponível em: [http://www.infarmed.pt/web/infarmed/infarmed/-/journal\\_content/56/15786/2710606](http://www.infarmed.pt/web/infarmed/infarmed/-/journal_content/56/15786/2710606)
- 7 – **Comissão de Avaliação de Medicamentos** - INFARMED, I.P. [Consultado a 13 ago. 2018] Disponível em: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/estrutura-e-organizacao/comissoes-tecnicas-especializadas/comissao-de-avaliacao-de-medicamentos>
- 8 – **Testing of counterfeit / illegal medicines within the GEON | EDQM** - European Directorate for the Quality of Medicines. [Consultado a 13 ago. 2018] Disponível em: <https://www.edqm.eu/en/Testing-counterfeit-medicines-1445.html>

Anexos

Anexo I: Organograma do INFARMED, I.P.



**Certificates catalogue** - [Consultado a 29 ago. 2018]. Disponível em: [https://extranet.edqm.eu/publications/Recherches\\_CEP.shtml](https://extranet.edqm.eu/publications/Recherches_CEP.shtml)



## Anexo 2: Pesquisa de CEPs na base de dados do EDQM



- You can search the certification database by:
  - Name of the certified substance or
  - Monograph number or
  - Holder of the certificate or
  - Certificate number or
  - Issue date of certificate or
  - Expiry date of certificate
  - Status of the certificate
- The substance name is equal to the monograph name and the subtitle for chemical, herbal and double certificates and is the substance name for TSE certificates

*If you are interested in all types of certificates, please select the button beside "all". If you are only interested in TSE or herbal certificates, please select the button beside your required choice and only TSE or herbal certificates will be displayed as a result of your choice.*



9 records matching your search string: " spironolactone".  
Click on the hyperlink(s) in column "Substance Number" below to obtain a more detailed information on the substance monograph.

**Issue date** - Indicates date of issue of the Certificate number listed.'

**Type** - The type of certificate is given as TSE or Chemical or Double and indicates whether a certificate is concerned by TSE risk evaluation ('TSE') or evaluation of chemical and microbiological quality ('Chem.') or both ('Double').'

[New Search](#)

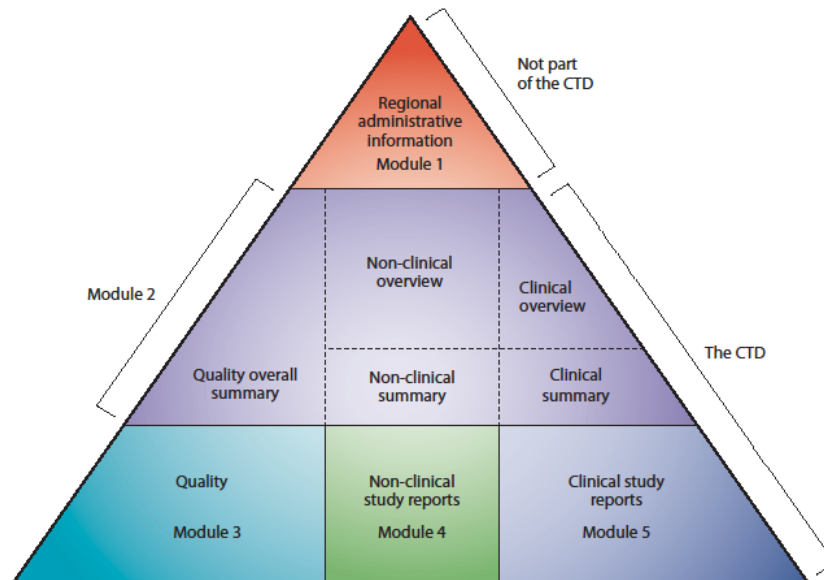
Substance Number	Substance	Certificate Holder	Certificate Number	Issue Date	Status	End date	Type
<a href="#">688</a>	Spironolactone	TIANJIN TIANYAO PHARMACEUTICALS CO., LTD. CN 300 462 Tianjin	R0-CEP 2007-115-Rev 02	09/06/2011	EXPIRED	06/02/2014	Chemistry
<a href="#">688</a>	Spironolactone	G.D. Searle LLC US 10017 New York City	R1-CEP 1997-038-Rev 06	25/10/2012	VALID		Chemistry
<a href="#">688</a>	Spironolactone	ZHEJIANG LANGHUA PHARMACEUTICAL CO., LTD. CN 317 016 Linhai	R1-CEP 2004-203-Rev 01	14/05/2013	VALID		Chemistry
<a href="#">688</a>	Spironolactone	Zhejiang Shenzhou Pharmaceutical Co., Ltd. CN 317 300 Xianju	R1-CEP 2003-175-Rev 04	19/04/2018	VALID		Chemistry
<a href="#">688</a>	Spironolactone Process B	TIANJIN JINJIN PHARMACEUTICAL CO., LTD. CN 300 380 Zhangjiawo Town	R1-CEP 2012-185-Rev 00	08/12/2017	VALID		Chemistry
<a href="#">688</a>	Spironolactone	TIANJIN JINJIN PHARMACEUTICAL CO., LTD. CN 300 380 Zhangjiawo Town	R1-CEP 2005-026-Rev 01	06/05/2011	VALID		Chemistry
<a href="#">688</a>	Spironolactone Micronised	SANOFI CHIMIE FR 94250 Gentilly	R1-CEP 2000-167-Rev 05	19/07/2016	VALID		Chemistry
<a href="#">688</a>	Spironolactone Micronised	Gedeon Richter Plc. HU 1103 Budapest	R1-CEP 2000-005-Rev 04	24/04/2014	VALID		Double
<a href="#">688</a>	Spironolactone TY II	TIANJIN TIANYAO PHARMACEUTICALS CO., LTD. CN 300 462 Tianjin	R1-CEP 2011-291-Rev 00	29/05/2017	VALID		Chemistry

[New Search](#)

ICH - **CTD** : ICH, atual. 2017. [Consultado a 29 ago. 2018]. Disponível em: <http://www.ich.org/products/ctd.html>

**Anexo 3: Organização do CTD**

**CTD Triangle**



The CTD triangle. The Common Technical Document is organized into five modules. Module 1 is region specific and modules 2, 3, 4 and 5 are intended to be common for all regions.

INFARMED, I. P. - **Estrutura e organização - INFARMED, I.P.** [Consultado a 29 ago. 2018]. Disponível em: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/estrutura-e-organizacao>

## Parte II

### Relatório de Estágio Curricular em Farmácia Comunitária na Farmácia Nova



Aveiro

Orientado pela Dr.<sup>a</sup> Sofia Pereira

## **Lista de Abreviaturas**

**DCI** - Denominação Comum Internacional

**FN** - Farmácia Nova

**MICF** - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**SWOT** - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

## Introdução

Um farmacêutico é um agente promotor de saúde, estando em contacto direto com a comunidade e muitas vezes constituindo um cuidado de proximidade, antes de o utente se dirigir ao centro de saúde ou hospital. Ciente desta responsabilidade, iniciei o estágio na Farmácia Nova (FN) com um misto de curiosidade, motivação por aprender e vontade de contribuir para o bem-estar da comunidade e bom funcionamento da farmácia.

De acordo com o código deontológico da Ordem dos farmacêuticos, cabe ao farmacêutico promover a "utilização segura, eficaz e racional dos medicamentos"<sup>1</sup> e assegurar-se de que o doente está devidamente informado no momento da dispensa sobre a posologia, via de administração e possíveis efeitos adversos. Também é função fundamental a promoção da educação em saúde.

O farmacêutico é um profissional com elevada competência na gestão da terapêutica, diagnóstico precoce de certas patologias, promoção do uso responsável do medicamento e incentivo de medidas não-farmacológicas de promoção da saúde pública. Com uma formação centrada no medicamento e o objetivo focado no doente, tem um papel privilegiado como agente de saúde pública<sup>2</sup>, que creio ter potencial para maior destaque na nossa sociedade.

O estágio curricular em farmácia comunitária permite um contacto com situações reais que impõe a aplicação prática dos conhecimentos adquiridos ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF). Assim, constitui uma oportunidade de consolidação de conhecimentos e de aquisição de experiência prática fundamentais ao início da execução da atividade farmacêutica.

O estágio na Farmácia Nova, em Aveiro, teve a duração de 4 meses, de janeiro a abril, e decorreu sobre a orientação da Dr.<sup>a</sup> Sofia Pereira.

No relatório que se segue, apresento uma análise resumida dos pontos fortes e fracos, oportunidades e ameaças relativas inerentes ao estágio realizado, utilizando a ferramenta de análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*).

## Análise SWOT

Pela análise interna e externa de 4 vertentes (Pontos Fortes e Fracos, Oportunidades e Ameaças), a ferramenta de análise SWOT permite identificar as características vantajosas que devem ser exploradas e encontrar as desvantagens que devem ser trabalhadas ou eliminadas, as oportunidades a usufruir e as ameaças a não esquecer. Internamente, interessa reconhecer os pontos fortes e os pontos fracos. Já na análise externa é diagnosticado o ambiente envolvente, nomeadamente as oportunidades e as ameaças que não são diretamente controláveis, mas que têm grande influência no desempenho.

**Tabela 2:** Quadro-resumo da análise SWOT ao estágio curricular na Farmácia Nova.

	<b>Pontos Fortes (Strengths)</b>	<b>Pontos Fracos (Weaknesses)</b>
<b>Análise Interna</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Formação do MICF</li> <li>▪ Localização da farmácia</li> <li>▪ Receção e apoio pela equipa</li> <li>▪ Variedade de funções desempenhadas</li> <li>▪ Ortopedia</li> <li>▪ Cashguard e 4Digital Care</li> <li>▪ Dinamização constante</li> <li>▪ Serviços prestados pela farmácia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Insegurança e hesitação no atendimento</li> <li>▪ Duração do estágio</li> <li>▪ Aconselhamento de determinados produtos</li> <li>▪ Acompanhamento farmacoterapêutico, conferência de receituário, preparação de manipulados</li> </ul>
	<b>Oportunidades (Opportunities)</b>	<b>Ameaças (Threats)</b>
<b>Análise Externa</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Formação contínua</li> <li>▪ Dispensa ao domicílio</li> <li>▪ Acordos com entidades como lares e fundações</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Flutuações de preços, rotura de stocks e retirada de lotes de medicamentos do mercado: impacto na atitude do utente</li> </ul>

## **Pontos Fortes (Strengths)**

### **1. Formação do MICF**

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) é um curso que oferece conhecimentos fundamentais às várias atividades farmacêuticas, pelo que no caso da farmácia comunitária destaco as cadeiras de farmacologia, farmacoterapia, farmacovigilância, deontologia, organização e gestão farmacêutica, *marketing* farmacêutico, entre outras. O curso é muito completo e fornece as ferramentas teóricas de base que permitem exercer as funções farmacêuticas, desde que aplicadas devidamente às situações práticas. Assim, a minha formação no MICF serve de fundação teórica num processo contínuo de aprendizagem.

### **2. Localização da farmácia**

A Farmácia Nova, propriedade do Dr. João Bastos que é também o Diretor Técnico da mesma, está localizada na rua Dr. Mário Sacramento, em Aveiro. Nas suas proximidades existem pontos de interesse como o centro comercial Glicínias, a sede da Altice Labs, a Escola Básica 1º Ciclo De Santiago, o Centro de Saúde de Aveiro e a própria Universidade de Aveiro. O bairro de Santiago supre grande parte dos utentes, e comporta desde estudantes universitários, a idosos e a imigrantes, provendo uma variada panóplia de situações que surgem diariamente à Farmácia, tornando o estágio mais rico.

A fidelização de utentes foi muito visível, observando-se uma elevada frequência de visitas (diárias e semanais), principalmente pela parte de idosos do bairro de Santiago.

### **3. Receção e apoio pela equipa**

A equipa da Farmácia Nova é constituída por 4 técnicos de farmácia e 2 farmacêuticos, satisfazendo o disposto no Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto<sup>3</sup>. Embora com funções e posições distintas, todos os membros da equipa cooperam entre si para melhor servir e garantir a segurança do utente, e assegurar a eficácia e qualidade dos medicamentos e dispositivos que dispensam. Na FN, os utentes são tratados com a maior simpatia e honestidade, de modo a criar laços de confiança que se desenvolvem em preferência e fidelização. Deste modo, assumi sempre uma postura de respeito e simpatia que aprendi ao observar os colaboradores.

Há um forte espírito de equipa na FN, havendo um trabalho conjunto e coordenado que resulta numa eficaz comunicação entre profissionais, DT e utentes, facilita a sugestão de inovações, a resolução de problemas e em geral melhora a qualidade dos serviços prestados,

o que se reflete na satisfação dos utentes. Notei a acessibilidade da equipa a resolver as minhas questões ao longo do estágio, a corrigir e a exemplificar.

#### **4. Variedade de funções desempenhadas**

##### **a. Gestão de encomendas e de stocks**

Ao longo de todo o estágio na FN, sobretudo nas primeiras semanas, as principais tarefas que desenvolvi foram relacionadas com a receção e conferência de encomendas e posterior armazenamento dos produtos. Para além de possibilitar uma ambientação à rotina diária da farmácia, permitiu conhecer os produtos disponíveis, os nomes das marcas dos medicamentos, a disposição dos produtos no armazém e na zona de atendimento e consegui compreender o funcionamento básico do programa de gestão utilizado, o 4DigitalCare. Este auxilia na elaboração de encomendas ao sugerir produtos, com base em *stocks* mínimos e máximos definidos, que podem ser ajustados a qualquer momento. A análise de quebras e rotura de *stock* permite ajustar o *stock* ao ideal.

Na conferência das encomendas é analisada a quantidade de cada produto, a sua data de validade, a integridade das embalagens e os respetivos preços. Após a receção, é necessário colocar os medicamentos e os produtos no local apropriado ao seu armazenamento. Tal é fundamental, já que uma arrumação incorreta pode induzir erros na dispensa e conseqüente risco para a saúde. Esta arrumação segue a regra do "*First-in, First-out*" para dar rotatividade aos produtos, evitando quebras por expiração de validade.

Para além das encomendas diárias, é possível a realização de encomendas instantâneas, as quais me foi permitido fazer de modo a satisfazer as necessidades dos utentes no menor tempo possível. Foi muito frequente a necessidade de contactar diretamente com os armazenistas para esclarecimento sobre a disponibilidade de determinados medicamentos, o seu tempo de entrega e o respetivo preço.

Ao observar o processo de encomenda e sua receção, assim como as devoluções, adquiri uma visão global e integrada da relação da indústria, dos armazenistas e das distribuidoras com a farmácia. A gestão de encomendas e a otimização de *stock* são fundamentais ao sucesso financeiro da farmácia e à satisfação das necessidades dos utentes.

##### **b. Atendimento de utentes**

Tendo iniciado no início do estágio o contacto com os utentes ao medir a tensão arterial e o nível de glicémia, apenas iniciei o atendimento ao balcão quando já me sentia à vontade no ambiente da farmácia. A minha paciência e empatia foram uma mais-valia na comunicação com os utentes, em que é fundamental transmitir informações corretas de



modo claro e através de linguagem apropriada. Com o decorrer do estágio notei que o meu discurso se foi tornando mais sucinto e direcionado, e consegui perceber que, na abordagem aos utentes, o modo de perguntar é tão fundamental como as perguntas em si. A minha facilidade em comunicar em inglês foi sem dúvida um ponto forte, já que por várias vezes houve a necessidade de transmitir informações importantes a indivíduos estrangeiros. O atendimento de utentes é uma tarefa de grande responsabilidade, em que é necessário conjugar uma boa comunicação com o uso de conhecimentos adquiridos ao longo do curso para compreender a queixa e encontrar a solução mais apropriada. A solução encontrada não é universal, sendo necessário atentar a todas as especificidades e estar sempre atenta a inovações. A relação de confiança com o utente deve ser baseada no respeito e honestidade, devendo o atendimento ser esclarecedor e transmitir tranquilidade e segurança. O utente não se deve sentir inibido, pois tal pode resultar em utilização inapropriada do medicamento e conseqüente perda de qualidade, eficácia e potencial risco para a saúde.

O tipo de atendimento deve ser adaptado ao tipo de utente. Notei que os utentes mais jovens preferiam atendimentos mais breves e uma abordagem mais direta, mas em geral, pela grande predominância de utentes idosos, muitos dos atendimentos foram caracterizados por um discurso mais calmo e, por vezes, um diálogo mais familiar. Após vários atendimentos aos mesmos utentes, notei uma maior confiança destes.

As receitas eletrónicas permitiram um fácil e rápido acesso aos medicamentos disponíveis correspondentes à(s) substância(s) ativa(s) prescritas por Denominação Comum Internacional (DCI), facilitando o atendimento. O 4DigitalCare contribuiu com informações sobre os medicamentos que nalguns atendimentos possibilitaram dar rápidos esclarecimentos ao utente sobre a posologia.

### c. Funções variadas

Para as campanhas de Dia de São Valentim, Carnaval, Dia do Pai e para a campanha de cessação tabágica em que participei, auxiliei na preparação dos materiais de exposição e de campanha, o que contribuiu como aprendizagem a nível de *marketing* e publicidade.

Com o desenvolvimento da zona de ortopedia, realizei a pesquisa de determinados produtos de interesse, a sua disponibilidade, os seus preços e os seus fornecedores, com o objetivo de colmar possíveis lacunas de *stock*.

O atendimento telefónico foi uma tarefa muito frequente, e consistiu maioritariamente no esclarecimento de questões dos utentes. Por exemplo, questões sobre o prazo de validade após abertura de certos produtos oftálmicos e auriculares, questões sobre interações medicamentosas, questões relativas à disponibilidade de certos produtos na

farmácia e inclusive alguns utentes a pedir esclarecimento sobre a retirada de medicamentos contendo paracetamol de libertação prolongada.<sup>4</sup>

Estas diversas funções permitiram-me visualizar as muitas atividades que, decorrendo atrás do balcão, são necessárias ao bom funcionamento da farmácia e comprovam-na como uma entidade dinâmica cujas necessidades estão em constante mudança.

## **5. Ortopedia**

Na segunda metade do meu estágio na Farmácia Nova, a zona de ortopedia ganhou destaque, pois embora já existente, não se encontrava ainda totalmente implementada. Com a reorganização da área de ortopedia e a realização de formações, os profissionais da FN ficaram mais informados e aptos a realizar aconselhamento. Tive a possibilidade de contactar com esta área que nem sempre está tão desenvolvida nas farmácias como na FN.

Para além de muletas, andarilhos, almofadas e sapatos ortopédicos, cadeiras de rodas e camas ortopédicas articuladas, a FN dispõe de uma grande variedade de ortóteses, arrumadas consoante a função associada e local associado como pescoço (ex: colares cervicais), ombro (ex: imobilizador de clavícula), tronco (ex: faixas sacrolombares) e outros.

Foi muito enriquecedor conhecer os vários tipos de ortóteses, como são colocadas e as suas diferentes funções. O seu uso inapropriado pode trazer sequelas para a saúde, pois as ortóteses não são inócuas, devendo a sua função, local e duração estar bem definida. Geralmente mediante apresentação de receita, o atendimento destes utentes requer que a ortótese seja experimentada para verificar o tamanho correto, o que é fundamental à sua eficácia e ao conforto do utente. Nalgumas situações é necessário tirar medidas muito rigorosas para determinar o tamanho adequado e encomendar aos fornecedores, por vezes sendo necessário pedir o fabrico com as dimensões indicadas.

A elevada variedade de produtos dificultou o aconselhamento, pelo que na grande maioria dos casos apenas observei o atendimento. Com o avançar do estágio, consegui memorizar alguns nomes de produtos e associar à função e à forma de colocar, mas seria necessário mais tempo para ficar confiante neste tipo de atendimento.

## **6. Cashguard e 4DigitalCare**

O *software* de gestão utilizado é o 4DigitalCare. Este caracteriza-se pela facilidade de manuseio, menus acessíveis, *design* simples mas moderno, apelativo e funcional e uma ligação rápida e eficaz ao INFARMED, I.P. e aos fornecedores. Há um contacto relativamente próximo com a equipa que desenvolve e faz a manutenção da plataforma, o que permite elaborar alterações à medida que forem surgindo novas necessidades, pelo que o DT

ocasionalmente sugere novas funcionalidades. Embora o 4DigitalCare apresente muitas vantagens em relação ao Sifarma 2000<sup>®</sup>, e possui grande parte das funcionalidades deste, o sistema de gestão 4DigitalCare não tem algumas das suas funcionalidades, como as informações relevantes que surgem nas fichas dos produtos e que auxiliam no aconselhamento ao utente. Outra desvantagem é a de que ocasionalmente o sistema bloqueia e é necessário contactar a assistência, impedindo temporariamente o atendimento.

Penso ser positivo para a Farmácia ter este *software* pois além de flexível e bastante intuitivo, está em constante atualização e melhoria, possuindo atualmente muitas das principais funcionalidades do Sifarma 2000<sup>®</sup> e futuramente terá todas senão mais.

O uso de Cashguard permitiu economizar tempo na realização de trocos e reduziu a probabilidade de enganos, além de funcionar como caixa-forte. A sua utilização é muito instintiva, bastando uma explicação inicial e poucas vezes de uso para a compreender.

## **7. Dinamização constante**

A FN é muito dinâmica, elaborando atividades com frequência. Durante o meu estágio foram organizadas campanhas no dia de S. Valentim, no Carnaval, no Dia do Pai e na Páscoa. Colocando cartazes e expondo produtos de interesse, para além de alguma decoração adicional à farmácia, foram publicitadas promoções e campanhas em vigor.

Elaborei uma campanha de cessação tabágica que decorreu durante uma semana, e esteve disponível a qualquer utente que mostrasse interesse. Sem intimidar, abordei alguns utentes, esclareci as suas dúvidas relativas aos produtos disponíveis para auxílio da cessação tabágica (pastilhas, transdérmicos, comprimidos para chupar) e tentei motivar à cessação. Penso que consegui, pelo menos nalguns utentes, cultivar a ideia de que é possível parar de fumar, e mostrei que há profissionais que podem apoiar o processo.

A ecografia 4D foi outra atividade que teve lugar na FN, na qual as mães puderam observar os filhos numa imagem 3D em movimento.

A farmácia publica diariamente, na página do *facebook*, informações sobre os seus produtos, promoções, campanhas e também informações de interesse e dicas de saúde.

## **8. Serviços prestados pela farmácia**

O gabinete de apoio ao utente da área de atendimento principal serve de local onde se realiza a medição de tensão arterial, medição de glicémia, colesterol e possui um aparelho de análise à urina, o Urisys 1100.<sup>5</sup> Estas medições permitem uma monitorização dos parâmetros bioquímicos e permitem um rápido diagnóstico de, por exemplo, infeções urinárias. Neste gabinete também se faz a administração de vacinas e injetáveis por

profissionais com devida formação.<sup>6</sup> Adicionalmente, realizam-se furos nas orelhas e colocação de brincos. A minha aprendizagem incidiu essencialmente na medição de tensão arterial e da glicémia, assim como análises à urina, permitindo detetar infeção urinária. Na realização destas medições e análises é fulcral o apropriado aconselhamento de medidas não farmacológicas e o seguimento da terapêutica.

Na área de ortopedia está acessível aos utentes um gabinete privativo que para além de permitir que as ortóteses, meias de compressão e outros dispositivos sejam experimentados antes da compra, garantindo o tamanho correto destas, é também o gabinete onde são realizadas consultas semanais de nutrição, podologia e ocasionalmente mesoterapia, por profissionais qualificados. Pude observar e aprender o modo de colocação das ortóteses e das meias de compressão.

Assim, os serviços prestados pela farmácia permitem um contacto próximo com os utentes, que diferencia as farmácias dos outros estabelecimentos onde se comercializam produtos de saúde, devendo haver um foco crescente nestas atividades diferenciadoras.

## **Pontos Fracos (Weaknesses)**

### **1. Insegurança e hesitação no aconselhamento**

Um dos aspetos que tenho a melhorar e que considero obstáculo ao meu desenvolvimento profissional relaciona-se com a minha baixa autoestima e insegurança. Daí decorre a minha falta de autonomia e incerteza no atendimento.

Os utentes deslocam-se à farmácia para satisfazer uma ou várias necessidades, procurando respostas e explicações por parte do farmacêutico. No meu caso, a minha incerteza atrapalhou/dificultou a transmissão dos meus conhecimentos. Felizmente, com a ajuda da equipa da FN e com o decorrer do tempo, fui ganhando confiança em mim mesma e nas minhas capacidades. Sei que tenho ainda muito a desenvolver e a melhorar, mas noto que cresci muito ao longo do estágio e devo esse crescimento aos colegas que me fizeram sentir confortável, integrada e ouvida.

### **2. Duração do estágio**

Uma vez que optei por realizar um estágio adicional, para além do estágio em farmácia comunitária, foi necessário repartir o tempo destinado ao estágio entre os dois locais, resultando em apenas 4 meses de estágio na FN. Os 2 meses iniciais foram de adaptação, e foi apenas no último mês senti uma aprendizagem intensa a cada dia, com um grande desenvolvimento das minhas capacidades e da minha confiança no atendimento.

Penso que um maior período de estágio teria sido benéfico, pois sinto que a maior aprendizagem apenas decorre após a adaptação inicial e algum tempo de prática.

### **3. Aconselhamento de determinados produtos**

Pela imensa variedade de produtos disponíveis no mercado e na própria farmácia, tive alguma dificuldade inicial em identificar os produtos solicitados pelos utentes. Adicionalmente, detetei dificuldade acrescida no aconselhamento de produtos cosméticos, veterinários e puericultura, para além dos ortopédicos e dos homeopáticos. Assumindo que não posso exigir do MICF uma formação que incida na ortopedia nem na homeopatia, pelo menos na formação de base, apenas refiro que detetei lacunas na dermocosmética e nos produtos de uso veterinário, pelo que creio ser possível uma adaptação das unidades curriculares correspondentes de modo a melhor preparar para a prática e aconselhamento.

### **4. Acompanhamento farmacoterapêutico, conferência de receituário, preparação de manipulados**

De um modo geral, apenas observei a conferência de receituário, pelo que não me sinto apta a realizar este tipo de tarefa. A FN não dispõe de preparação de manipulados nem realiza serviço de acompanhamento farmacoterapêutico.

Assim, não foi possível observar nem realizar certas atividades farmacêuticas de interesse que seriam uma mais-valia à minha formação.

## **Oportunidades (*Opportunities*)**

### **I. Formação contínua**

Quer no horário de funcionamento, quer fora desse horário, foi-me dada a oportunidade de ter formações variadas. Muitas vezes estas formações foram dirigidas por delegados de saúde que vinham apresentar os novos produtos da marca que representavam. Por exemplo, tive formações da Kukident<sup>®</sup>, Pharma Nord<sup>®</sup>, Meritene<sup>®</sup>, Papillon<sup>®</sup>, Hartmann<sup>®</sup>, Orliman<sup>®</sup> (ortopedia) entre outras.

Também tive a oportunidade de assistir a uma formação relativa aos contraceptivos orais femininos e a sua utilização relacionada com a acne, promovida pela Gedeon Richter, fora do horário de funcionamento da farmácia.

Nunca é demais reforçar a importância da formação contínua. O farmacêutico deve estar sempre a par das inovações em saúde, quer por questões de saúde pública, éticas e de

qualidade no aconselhamento. Por este motivo considero estas formações uma mais-valia na minha formação profissional, especialmente pois são muito vocacionadas para o aconselhamento farmacêutico e abordam questões práticas. Por exemplo, na formação da Kukident não só foi referida a composição dos produtos e a sua função na formulação, como se falou da textura, sabor e aspeto das pastas e de como identificar o tipo de pasta que mais satisfará determinado tipo de utente.

## **2. Dispensa ao domicílio**

No meu estágio pode observar a implementação do serviço de dispensa de medicamentos ao domicílio. Por contacto telefónico, por email ou ao balcão, o utente indica os seus dados pessoais como o nome, a morada e o seu contacto e mostra a receita médica ou indica os códigos de acesso e de opção (se se tratar de medicamento sujeito a receita médica), podendo realizar o pré-pagamento ou o pagamento no momento da entrega.

Este serviço visa especialmente os utentes com mobilidade reduzida, mas não se limita a estes, estando disponível a todos os utentes que o solicitarem. Realizei o preenchimento de algumas fichas com dados para dispensa ao domicílio, e penso que a adesão a este serviço será cada vez maior, especialmente com a publicidade realizada pela FN nas redes sociais e nos LCD no interior e exterior da farmácia.

## **3. Acordos com lares e fundações**

Ao trabalhar em conjunto com lares de idosos, Fundações e Misericórdias é possível garantir algum rendimento adicional à farmácia e simultaneamente auxiliar no aprovisionamento destas instituições. Pude participar na dispensa de medicamentos destinados a estas instituições, sendo as receitas fornecidas pelos enfermeiros dos respetivos serviços. De facto, verifiquei uma estreita relação com estes profissionais, com contacto diário para resolução de questões e por vezes para aconselhamento de alternativas terapêuticas.

### **Ameaças (*Threats*)**

#### **1. Flutuações de preços, rotura de stocks e retirada de lotes de medicamentos do mercado: impacto na atitude do utente**

As constantes alterações de preços dos medicamentos geram desconfiança e confusão nos utentes, dificultando o seu atendimento. De igual modo, a rotura de stock de medicamentos a nível nacional conduz à insatisfação do utente e reduz a sua fidelização à farmácia, favorecendo a sua procura noutros locais de venda. Por fim, a retirada de lotes de

medicamentos do mercado, quando não é devidamente explicada pelos meios de comunicação social, pode gerar suspeita e insegurança nos utentes. De facto, na retirada de medicamentos do mercado contendo paracetamol em formas farmacêuticas de libertação prolongada houve vários utentes que me confrontaram com a toma de paracetamol em geral, pelo que procedi à explicação de que o paracetamol continua a ser seguro desde que não tomado por longos períodos de tempo ou em doses muito elevadas.

Embora não seja possível controlar estas situações, é possível minorar os seus efeitos nos utentes. Por exemplo, durante o meu estágio houve uma prolongada rotura de stock de um medicamento anti-hipertensor, pelo que foi sugerido aos utentes o contacto com o médico para procurar uma alternativa terapêutica.

Quer seja pelo crescente acesso a informação, através da internet e meios de comunicação, quer pelo facto de a população estar cada vez mais instruída na área da saúde, ou até pela maior preocupação com a saúde e o bem-estar, a verdade é que a atitude do utente exige um cuidado cada vez maior do farmacêutico. É frequente o farmacêutico ser encarado como um profissional que transmite informação segura e de qualidade. No entanto, é cada vez mais comum a desconfiança do utente, despoletada por um histórico de situações negativas (ex.: fatores anteriormente mencionados) ou por fatores externos à farmácia, como opiniões de terceiros. Como profissional altamente qualificado, cabe ao farmacêutico assegurar a eficácia, segurança e qualidade dos medicamentos dispensados, o que inclui elucidar o utente sobre a posologia, possíveis interações e efeitos secundários e outras informações que possam ser solicitadas. Um utente desconfiado requer uma argumentação robusta e um discurso empático, de respeito, transparência e compreensão. Embora alguns utentes possuam personalidades mais complicadas, o farmacêutico tem como missão a promoção da saúde pública, e por isso deve focar os seus esforços neste sentido.

## Casos Práticos

### Caso A

Um Sr. deslocou-se à farmácia e ao balcão mostrou uma foto retirada da internet com uma imagem que indicou ser semelhante ao que a sua mulher, acamada por ter um pé partido, tinha abaixo do seio, descrevendo uma mancha vermelha com algum pontilhado que lhe provocava muito prurido. Indicou que tinha colocado Canesten® e creme Nivea®.

Aconselhei a limpeza do local com gel-creme Lipikar Syndet AP+®, seguida de uma boa secagem, pois o local indicado é propício à acumulação de transpiração e consequentemente favorece o aparecimento de fungos. Desaconselhei o uso de Nivea, pois este favorece o desenvolvimento fúngico. Recomendiei a aplicação de um creme contendo uma associação de antifúngico e corticosteroide, para tratar simultaneamente o prurido e a vermelhidão, que deveria ser aplicado 2 vezes por dia, até melhoria completa. Também aconselhei que após o término da aplicação do creme contendo corticosteroide fosse aplicado creme hidratante para repor a camada lipídica, que é danificada pela aplicação de corticosteroides, assim prevenindo recidivas da infeção fúngica.

### Caso B

Uma Sra. de meia-idade deslocou-se de manhã à farmácia e perguntou-me que tipos de exames realizávamos pois sentia-se mal e muito confusa desde que acordara. Conduzi a senhora ao gabinete de utente e medi a tensão arterial, que se revelou normal. Seguidamente, ao medir a glicémia, o valor obtido foi de 331, em jejum (a última refeição tinha sido há mais de 3 horas), o que é um valor superior ao normal<sup>8</sup>.

Ao conversar e ao fazer algumas questões, descobri que a senhora sofria de diabetes, hipertensão, angina de peito e "problemas da tiroide". Assim, alertei para o valor elevado da glicémia e expliquei os sintomas da hiperglicemia e os riscos para a saúde associados<sup>9</sup>. Despertei para a toma correta da medicação, e recomendiei uma alimentação simples durante o resto do dia, com ingestão de poucos hidratos de carbono (arroz, massa, pão, batata), evitar frutas, bolos e açúcares em geral. Solicitei que voltasse a passar na farmácia, durante a tarde, para nova medição da glicémia. De facto, quando regressou, a glicémia pós-prandial estava a 150 e, portanto, ainda elevada. A senhora garantiu que tomava corretamente a medicação, pelo que foi novamente repetido a cautela na ingestão de açúcares e foi recomendado um chá de canela<sup>10</sup> para auxílio do controlo glicémico. Solicitou-se que voltasse a passar na farmácia para monitorização dos níveis glicémicos.



## **Considerações Finais**

O estágio na FN permitiu-me não só desenvolver as minhas capacidades a nível profissional, mas também a nível pessoal. Houve um grande processo de aprendizagem, consolidação de conhecimentos e de aplicação prática destes que acredito que continuará ao longo da minha vida profissional em prol da melhoria contínua. Adquiri uma visão global do papel do farmacêutico como agente de promoção da saúde pública, que deve estar constantemente informado para que os serviços por si prestados sejam da maior qualidade.

No atendimento ao público esforcei-me para manter a boa imagem da farmácia, agindo sempre em função do utente e das suas necessidades. Pela participação num rastreio e pelo atendimento ao público pude constatar o meu gosto em ouvir as pessoas e ajudá-las.

O dia-a-dia de uma farmácia tem tanto de rotina como de novidade, pois embora haja casos que possam parecer semelhantes, as especificidades de cada um implicam soluções distintas e individualizadas. Assim, durante o estágio desenvolvi a minha flexibilidade e adaptabilidade a novas situações e a minha capacidade de interligar conceitos.

Admito que tenho ainda muito para aprender e algumas limitações que terão de ser ultrapassadas, mas acredito que com a experiência conseguirei superar estes obstáculos, uma vez que já os identifiquei e sei como os resolver.

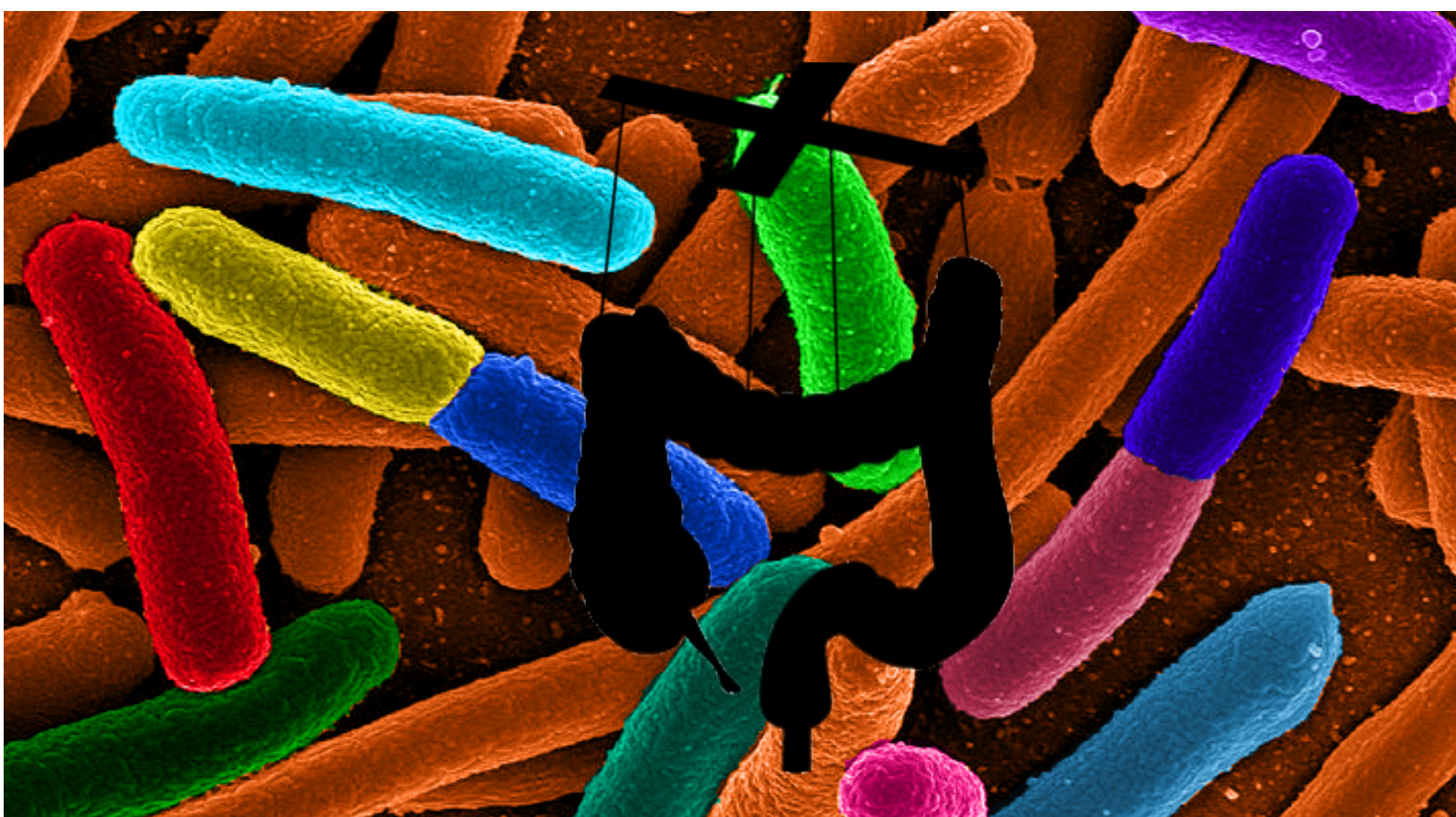
Considero este estágio um sucesso, em grande parte pelo apoio e motivação constantes pela equipa da FN, que criaram um ambiente onde me senti integrada. O espírito de equipa, o dinamismo, o genuíno interesse pelo bem-estar dos utentes, o profissionalismo e a simpatia que pude presenciar servirão de exemplo ao tipo de farmacêutica que pretendo ser no futuro.

## Bibliografia

- 1- **ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos.** [Consultado a 16 ago. 2018]. Disponível em: <http://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/a-ordem-dos-farmaceuticos/regulamentos/>
- 2- **A Farmácia Comunitária - Farmácia Comunitária - Áreas Profissionais - Ordem dos Farmacêuticos** - [Consultado a 16 ago. 2018]. Disponível em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
- 3- **Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto** - Ministério da Saúde - Diário da República – I Série A. N.º 168 (6083-6091) [Consultado a 16 ago. 2018]. Disponível em: <https://dre.pt/web/guest/pesquisa/-/search/641148/details/maximized>
- 4- **Circular Informativa n.º 039/CD/100.20.200** - INFARMED, I. P. [Consultado a 16 ago. 2018]. Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/2398909/Circular+Informativa+N.%C2%BA+039\\_CD\\_100.20.200.pdf/ab7ff1c8-17b3-4ef1-85bd56f88b4071af](http://www.infarmed.pt/documents/15786/2398909/Circular+Informativa+N.%C2%BA+039_CD_100.20.200.pdf/ab7ff1c8-17b3-4ef1-85bd56f88b4071af)
- 5- **Urysis 1100 - Point of Care Testing | Roche Diagnostics USA** - [Consultado a 16 ago. 2018]. Disponível em: <https://usdiagnostics.roche.com/en/point-of-care-testing/poc-testing/urinalysis/urysis-1100.html>
- 6- **Deliberação n.º 139/CD/2010 de 21 de outubro** - INFARMED, I. P. - [Consultado a 16 ago. 2018]. Disponível em: [http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/139\\_CD\\_2010.pdf/4d614fa9-63e0-4220-ad81-d8689829be6a](http://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/139_CD_2010.pdf/4d614fa9-63e0-4220-ad81-d8689829be6a)
- 7- **Norma n.º 002/2011 de 14 de janeiro** - Direção Geral de Saúde [Consultado a 16 ago. 2018]. Disponível em: <https://www.dgs.pt/programa-nacional-para-a-diabetes/circulares-normas-e-orientacoes/norma-da-direccao-geral-da-saude-n-0022011-de-14012011.aspx>
- 8- **Complicações** - [Consultado a 16 ago. 2018]. Disponível em: <https://www.apdp.pt/diabetes/complicacoes>
- 9- ALLEN, R. W., SCHWARTZMAN, E., BAKER, W. L., COLEMAN, C. I. and PHUNG, O. J. **Cinnamon use in type 2 diabetes: an updated systematic review and meta-analysis.** *Ann. Fam. Med.* 11, (2013) 452–9.

### Parte III:

## Doenças Inflamatórias Intestinais: qual a importância da microbiota?



Orientada pela Professora Doutora Leonor Almeida

## Abreviaturas

- AIEC** - *E. coli* Aderente-Invasiva  
**AINEs** - Anti-inflamatórios Não Esteróides  
**ATG16LI** - *Autophagy-related protein 16-Like 1*  
**CC** - Células Caliciformes  
**CEACAM6** - *Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6*  
**CEI** - Células Epiteliais Intestinais  
**CU** - Colite Ulcerosa  
**DC** - Doença de Crohn  
**DII** - Doenças Inflamatórias Intestinais  
**EEN** - Nutrição Exclusivamente Entérica  
**FMT** - Transplantação de microbiota fecal  
**GA-test** - *GA-map Dysbiosis Test*  
**GF** - *Germ free*  
**GM-CSF** - Fator Estimulador de Colónias de Granulócitos e Macrófagos  
**IL23R** - *Interleukin-23 Receptor*  
**ILC** - Células Linfóides Inatas  
**MDP** - Muramil Dipeptídeo  
**MUC2** - Mucina 2  
**NCR** - Recetor de Citotoxicidade Natural  
**NLR** - *NOD-like receptor*  
**NOD** - *Nucleotide-binding Oligomerization Domain-containing protein*  
**PGN** - Peptidoglicano  
**PRR** - Recetor de Reconhecimento de Padrões  
**PTPN** - *Protein Tyrosine Phosphatase Non-receptor*  
**RE** - Retículo Endoplasmático  
**ROR $\gamma$ t** - *Retinoic-acid Receptor gamma*  
**ROS** - *Reactive Oxygen Species*  
**SFB** - *Segmented filamentous bacteria*  
**SPF** - *Specific Pathogen Free*  
**TGF- $\beta$**  - *Transforming Growth Factor*  
**Th** - *T-helper cell*  
**TLR** - *Toll-like receptor*  
**TNF** - Fator de Necrose Tumoral  
**Treg** - Linfócitos T-reguladores  
**Trp** - L-triptofano  
**UPR** - *Unfolded Protein Response*

**Resumo**

As doenças inflamatórias intestinais (DII) são doenças crônicas e recorrentes que compreendem a Doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerosa (CU). O rápido aumento da sua incidência nos países asiáticos, a sua elevada morbidade, o impacto na qualidade de vida dos doentes e a falta de terapêuticas com capacidade de manter a remissão tornam imperativa a investigação destas doenças. A sua etiologia não está completamente esclarecida, embora seja reconhecida uma resposta imune exacerbada aos microrganismos intestinais em indivíduos geneticamente suscetíveis, que pode ser influenciada por fatores ambientais. A complexa interação da resposta imune, genes e microbiota implica a necessidade de extensos estudos à microbiota intestinal e ao impacto das suas alterações na imunidade e inflamação intestinal. Para melhor diagnóstico e terapêutica, a compreensão do papel da microbiota nas DII é fundamental.

**Palavras-chave:** doença de Crohn, colite ulcerosa, doenças inflamatórias intestinais, microbiota, inflamação, imunidade.

**Abstract**

The Inflammatory Bowel Diseases (IBD) are chronic, relapsing diseases that include Crohn's disease and ulcerative colitis. The rapid increase in their incidence in Asian countries, the high morbidity of these diseases, the strongly negative impact in the quality of life and the lack of therapy capable of sustaining remission are all factors that reinforce the need for research about this subject. The disease etiology is not fully understood, although it is recognized that it resides in an exacerbated immune response to the gut microbiota in genetically susceptible individuals, that can be influenced by environmental factors. The complex interaction between the immune response, genes and the microbiota requires extensive studies on the gut microbiota and the impact of its changes in immunity and intestinal inflammation. In order to achieve better diagnostic and treatment options, the understanding of the role of microbiota in the inflammatory bowel diseases is crucial.

**Palavras-chave:** Crohn's disease, ulcerative colitis, inflammatory bowel diseases, microbiota, inflammation, immunity.

## Introdução

As doenças inflamatórias intestinais são doenças crônicas e recorrentes que compreendem a Doença de Crohn e a Colite Ulcerosa. A incidência destas doenças tem sofrido um acelerado aumento nos países asiáticos recentemente industrializados, à medida que se assemelham aos países ocidentais, e embora tenha estabilizado no ocidente, a sua prevalência é superior a 0,3 % nos Estados Unidos e nalguns países europeus.<sup>1</sup> O início precoce das DII, a alternância entre períodos de atividade e de remissão e o impacto fortemente negativo na qualidade de vida dos doentes são fatores que impellem ao desenvolvimento de terapêuticas mais eficientes no combate a estas doenças de elevada morbidade. Atualmente, não há tratamento definitivo, mas sim terapêuticas com o objetivo de aliviar os sintomas e minorar as recidivas, para assim melhorar a qualidade de vida.<sup>2</sup> Tais terapêuticas consistem, geralmente, na utilização de aminossalicilatos, imunomoduladores, agentes biológicos e na cirurgia. Cerca de 80 % dos doentes necessitam de uma intervenção cirúrgica ao longo da sua vida, e a grande maioria desenvolve complicações após um ano.

A etiologia das DII não é integralmente conhecida, havendo lacunas no conhecimento dos mecanismos subjacentes. Uma dessas lacunas consiste no papel da microbiota intestinal no desenvolvimento destas patologias.

Os seres humanos são colonizados por triliões de bactérias, com a maioria a residir no intestino. A evolução conjunta de humanos e organismos colonizadores permitiu a constituição de uma relação de comensalismo, na qual os organismos comensais usufruem da abundância nutricional e das condições relativamente estáveis do organismo, e em troca providenciam metabolitos e catalisam reações benéficas ao corpo humano.

Já dizia Hipócrates, há mais de 2 milénios, que “todas as doenças começam no intestino”. De facto, alterações da microbiota têm sido associadas a numerosas doenças, desde doenças inflamatórias intestinais, obesidade, diabetes *mellitus* e até mesmo autismo e comportamentos depressivos, segundo o eixo cérebro-intestino. Com os avanços tecnológicos recentes, o interesse pela relação da microbiota com a saúde humana sofreu um grande impulso nos últimos anos. As DII não são exceção, havendo um grande volume de estudos recentes nesta temática.

Nesta revisão da literatura pretendo apresentar os diferentes papéis da microbiota nas doenças inflamatórias intestinais, incluindo o papel que pode ter na terapêutica, assim evidenciando a sua importância.

## **Doenças inflamatórias intestinais: caracterização**

As doenças inflamatórias intestinais são doenças crônicas que afetam o trato gastrointestinal, caracterizadas pela alternância entre estados inflamatórios e estados de remissão, com grande impacto negativo na qualidade de vida dos doentes. A DC e a CU estão associadas aos sintomas clínicos de diarreia com ou sem sangue, dor abdominal, perda de peso e outros sintomas que dependem do fenótipo e da severidade da doença.

A CU consiste numa inflamação contínua e difusa que se estende do reto ao cólon, com possibilidade de desenvolver inflamação moderada do íleo. Distinguem-se 4 fenótipos, nomeadamente a proctite, proctosigmoidite, colite esquerda e pancolite.<sup>3</sup> Por outro lado, a DC pode envolver qualquer porção do trato gastrointestinal, mas é mais comum afetar o íleo terminal e o cólon, zonas que estão associadas a maior abundância bacteriana.<sup>4</sup> Ao contrário da CU, a inflamação ocorre em porções descontínuas, também designadas *skip lesions*, com grande demarcação entre a mucosa saudável e a anormal. Na DC é frequente a acumulação de gordura mesentérica, designada por *creeping fat*.

A etiologia das DII ainda não está bem esclarecida, mas pensa-se que consiste na resposta imune exacerbada à microbiota intestinal em indivíduos geneticamente suscetíveis. Fatores ambientais, hábitos alimentares, xenobióticos e hábito de fumar são apontados como fatores de risco ou possíveis agravantes destas doenças.

## **Microbiota**

A comunidade de microrganismos comensais que coloniza o intestino humano desenvolve-se principalmente nos primeiros anos de vida. O feto é considerado relativamente estéril, sendo após o nascimento, por contacto com a microflora vaginal e fecal materna, e ao ingerir o leite materno, que o recém-nascido adquire as espécies colonizadoras iniciais, geralmente *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. A microbiota intestinal começa por ser simples e instável, com posterior enriquecimento em complexidade e variedade de microrganismos, estabilizando por volta dos 2-3 anos e mantendo-se relativamente estável ao longo da vida adulta.<sup>5</sup> Por influência de fatores ambientais e genéticos, a microbiota desenvolve uma diversidade muito específica para cada indivíduo.

Em humanos saudáveis, a microbiota intestinal é constituída por bactérias, fungos e vírus, no entanto os estudos realizados dão destaque às espécies bacterianas.

A microbiota intestinal é dominada por Bacteroides e Firmicutes, e em menor extensão por Proteobacteria e Actinobacteria. Porém, há uma grande variabilidade na

composição da microbiota entre indivíduos saudáveis, para além de que a composição e funções da microbiota são relativamente variáveis ao longo do tempo.

Na ocorrência de alterações na composição, função ou abundância da microbiota com impacto negativo na saúde do hospedeiro, surge o termo de disbiose. Estão reportadas alterações na microbiota intestinal em várias doenças imunes e autoimunes como as DII, síndrome do cólon irritável e até mesmo a asma, obesidade e doenças cardiovasculares.

### A disbiose nas doenças inflamatórias intestinais

Nas DII observa-se diminuição da variabilidade bacteriana intestinal, com redução da presença de bactérias às quais se atribuem funções benéficas e protetoras como Lachnospiraceae, *Bifidobacterium*, *Roseburia* e *Sutterella*, e um aumento em grupos bacterianos considerados prejudiciais à saúde humana, como Proteobacteria (*Escherichia coli*), espécies de *Fusobacterium* e *Ruminococcus gnavus*, como se pode ver na tabela 3.

**Tabela 3:** Espécies microbianas potencialmente inflamatórias e potencialmente protetoras nas DII em humanos.

Aumentadas nas DII, potencialmente inflamatórias	Diminuídas nas DII, potencialmente protetoras
Proteobacteria*	Bifidobacterium sp.
<i>Escherichia coli</i> – AIEC	Clostridium dos grupos IV e XIVA *
Espécies de <i>Fusobacterium</i>	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i> *
<i>Ruminococcus gnavus</i> *	Espécies de <i>Roseburia</i>
Pasteurellaceae	Espécies de <i>Sutterella</i>
Veillonellaceae	Bacteroides*
Caudovirales	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Clavispora lusitaniae</i>	
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	
<i>Candida albicans</i> , <i>Candida tropicalis</i>	
<i>Cyberlindnera jadinii</i>	

\*Atividade inflamatória/protetora documentada em colite experimental.

Adaptado de Sartor e Wu, 2017.

As alterações na microbiota são mais extensas na DC do que na CU. A presença de Firmicutes, Proteobacteria e *Lactobacillus* está associada à CU, enquanto que na DC há uma presença significativa de *Streptococcus*.<sup>7</sup>

De acordo com a hipótese do oxigénio, colocada por Rigottier-Gois, 2013,<sup>8</sup> a disbiose pode ter origem no aumento da pressão de oxigénio no intestino que ocorre durante estados inflamatórios, levando à alteração das condições anaeróbias fisiológicas. Assim, o enriquecimento em oxigénio colocaria em vantagem as espécies anaeróbias facultativas, explicando o aumento observado neste tipo de bactérias (Proteobacteria e



Actinobacteria) paralelo à diminuição quantitativa e qualitativa de bactérias anaeróbias obrigatórias, nomeadamente *Bacteroides thetaiotaomicron* e *Faecalibacterium prausnitzii*.<sup>9</sup> Embora se verifique que as alterações à oxigenação influenciam a composição da microbiota, há falta de estudos que confirmem a hipótese do oxigénio.

Na DC há redução na presença dos filos Bacteroidetes e Firmicutes, com diminuição de *F. prausnitzii* na doença ativa. Este organismo é produtor de butirato, o qual possui funções anti-inflamatórias e um potencial efeito protetor na colite.<sup>4</sup> Com o desenvolvimento da DC, há um aumento de Proteobacteria e Actinobacteria e aumento de *Enterobacteriaceae*, especificamente de *E. coli*. Além disso, há uma presença 10 vezes superior de bactérias com capacidade de penetrar na camada mucosa, comparando com controlos saudáveis, que pode ser explicado pelo aumento de bactérias mucolíticas como *Ruminococcus gnavus* e *Ruminococcus torques*.<sup>10</sup> Por outro lado, observa-se a redução em *Bifidobacterium adolescentis*, *Dialister invisus* e espécies de *Clostridium*. Em doentes com DC severa, a composição bacteriana evidencia grande abundância de *Pelomonas* e *Flavobacterium*, com reduzida presença de Bacteroidetes, o que sugere que a composição da microbiota é indicativa da severidade da doença.<sup>11</sup>

De referir que não se observa diferença significativa entre as comunidades bacterianas da mucosa inflamada e da mucosa não inflamada, quer na DC quer na CU. No entanto, a microbiota fúngica apresenta diferenças significativas na sua composição e diversidade na mucosa inflamada da DC, comparando com as zonas da mucosa não inflamada, o que sugere a associação entre a atividade da doença e a disbiose fúngica.<sup>12</sup>

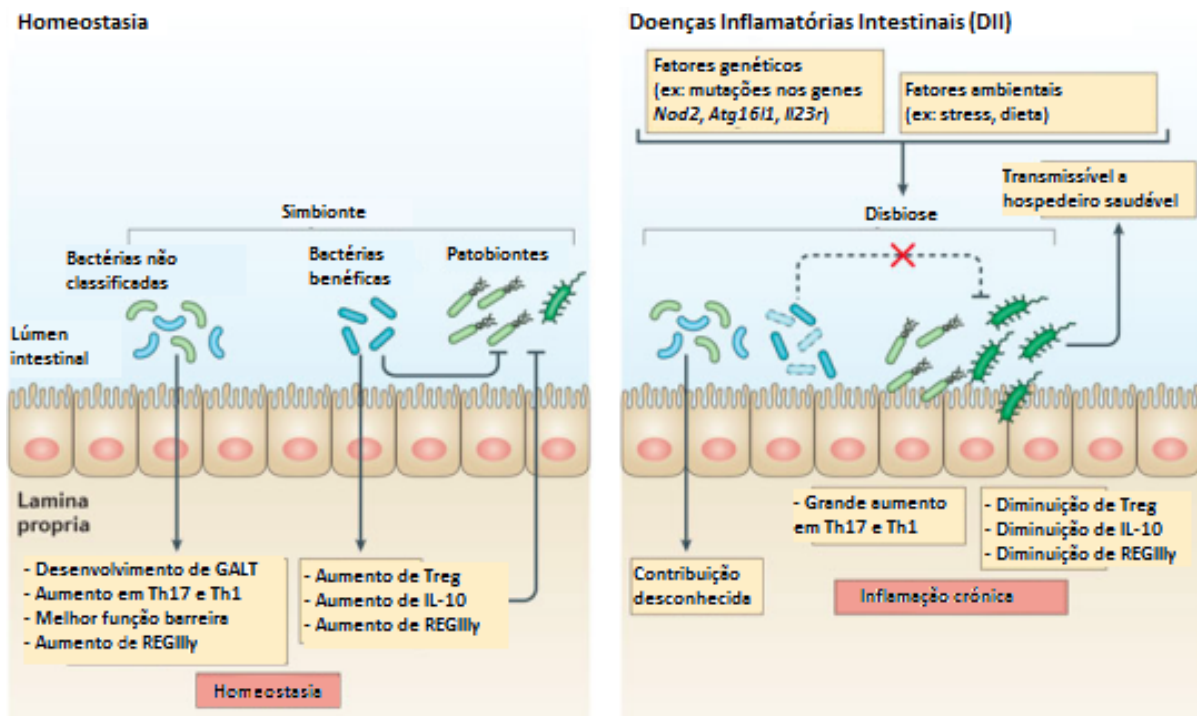
Embora haja um elevado volume de evidências experimentais e clínicas de suporte à presença de disbiose na DC, ainda não há consenso se esta é a causa ou consequência das DII, uma questão muitas vezes apelidada por "*chicken or egg question*".

Recentemente, Schaubek *et al.* 2016,<sup>13</sup> apontaram a importância da microbiota como causa de ileíte semelhante a DC. Neste estudo, murganhos TNF<sup>ΔARE</sup>, um modelo usual de DC com sobre-expressão de fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), quando em condições *germ-free* (GF) não desenvolveram ileíte, e o tratamento antibiótico diminuiu a severidade da doença, apontando para a dependência da microbiota comensal no desenvolvimento e severidade da doença. Os mesmos autores constataram que a transferência de comunidades bacterianas disbióticas dos murganhos *Specific Pathogen Free* (SPF)–TNF<sup>ΔARE</sup> para murganhos GF induz nestes uma ileíte semelhante à dos doadores.

Seja como causa ou como consequência da inflamação intestinal, as alterações à microbiota têm um importante papel na homeostasia intestinal e na inflamação.

## Patobiontes

Há alguma evidência de comensais potencialmente patogênicos, designados patobiontes, específicos no desenvolvimento das DII, e que são distintos na DC e na CU. Na figura 1 esquematiza-se a relação entre as bactérias comensais e os patobiontes, e o seu papel na homeostasia intestinal.



Nature Reviews | Immunology

**Figura 1:** O papel de bactérias protetoras e patogênicas da microbiota intestinal nas DII. À esquerda, na homeostasia, algumas comensais possuem atividade anti-inflamatória e suprimem os patobiontes colitogênicos, induzindo respostas imunes de regulação. Do lado direito, nas DII, a combinação de fatores genéticos e ambientais resulta na alteração da comunidade bacteriana intestinal. A linha a tracejado representa a diminuição da supressão de patobiontes pelas comensais. GALT, Tecido Linfóide Associado ao Intestino. Adaptado de Kamada *et al.* 2013.<sup>14</sup>

Neste contexto, foi colocada a hipótese do *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* ser um patobionte relacionado com a DC, no entanto os vários estudos evidenciam resultados contraditórios, não conseguindo demonstrar que a infecção por *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* precede a DC.<sup>15</sup>

De relevar o papel da *E. coli*, uma bactéria comensal colonizadora precoce na infância, que pode ser encontrada em virtualmente todos os seres humanos. Alguns dos seus genes de resposta a stresse são sobre-expressos na inflamação, sendo exemplo o gene *gadAB*, que se associa a colite atenuada e resposta imune reduzida. O mecanismo consiste na inibição da translocação bacteriana pelas células epiteliais intestinais (CEI) e aumento da sensibilidade

bacteriana a péptidos antimicrobianos, resultando em menor sobrevivência da bactéria, em prol da diminuição da resposta inflamatória do hospedeiro.<sup>6</sup>

Algumas estirpes de *E. coli* aderente-invasiva (AIEC) estão muito associadas às lesões da mucosa do íleo na DC e, possivelmente, terão sido alvo de seleção evolutiva pelo ambiente inflamatório intestinal.<sup>16</sup> Esta estirpe adere, invade e replica intracelularmente nas CEI e replica-se em macrófagos sem provocar a morte celular destes nem a libertação de TNF- $\alpha$ , não ocorrendo a resposta imune <sup>4</sup>. A adesão às CEI requer a interação de pili do tipo I com um membro do antigénio carcinoembriónico, *Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6* (CEACAM6), uma glicoproteína ancorada à superfície celular que está sobre-expressa na DC, facilitando a colonização por AIEC. Para além do CEACAM6, a vimentina, uma proteína da família dos filamentos intermediários, foi proposta como recetor das AIEC. De referir que a caspase *Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2* (NOD2) requer a vimentina para deteção de antigénios e ativação do NF- $\kappa$ B, pelo que as variantes do NOD2 associadas à DC, que não reconhecem a vimentina, associam-se a uma deficiente resposta imune e colonização intestinal facilitada por AIEC.<sup>17</sup>

Uma colonização temporária por AIEC em murganhos tipo selvagem não altera a composição da microbiota, mas em murganhos T5<sup>KO</sup> *knockout* para o *Toll-like receptor 5* (TLR5) que liga a flagelina bacteriana, esta colonização transitória resulta na alteração da microbiota e aumento dos níveis de lipopolissacarídeo e flagelina bioativos, persistentes mesmo após remoção da AIEC.<sup>18</sup> Porém, a ausência de TLR5 apenas tem impacto na microbiota se esta for relativamente complexa, com presença da AIEC. Numa microbiota mais simples não se verifica nem alteração da sua composição nem do seu potencial inflamatório.<sup>19</sup>

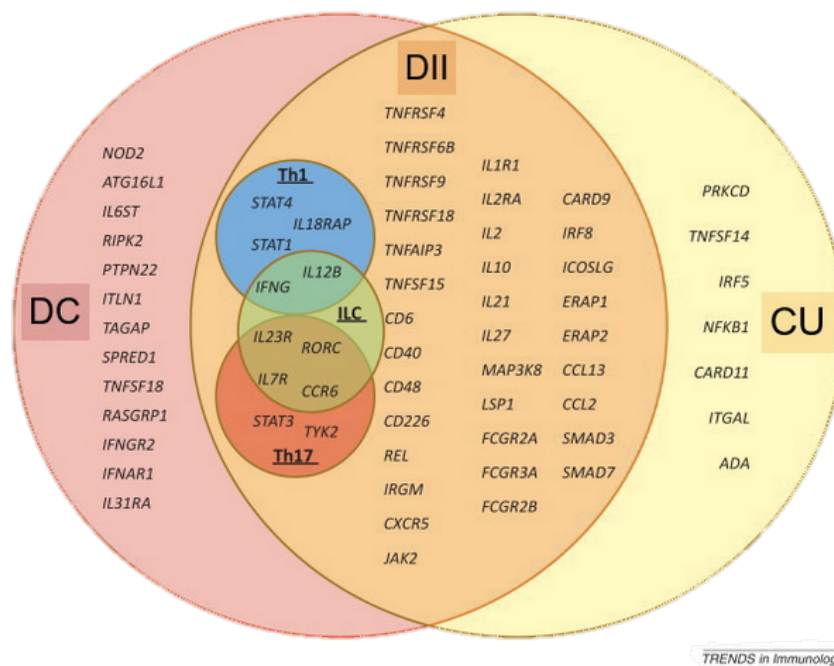
A AIEC foi igualmente associada à CU, onde é detetada com maior frequência do que em indivíduos saudáveis,<sup>20</sup> assim como espécies de *Campylobacter*, especialmente *Campylobacter ureolyticus*.<sup>21</sup> *Fusobacterium varium* é um comensal detetado na mucosa inflamada de doentes com CU, cuja cultura produz um sobrenadante muito rico em ácido butírico e tem a capacidade de provocar lesões na mucosa intestinal por aumento da atividade apoptótica.<sup>22</sup> No entanto, o butirato tem reconhecida atividade anti-inflamatória por estimulação da diferenciação de linfócitos T reguladores, sendo produzido por *Roseburia hominis* e *F. prausnitzii*, cuja presença está diminuída nas fezes de doentes com CU, e há evidência de que a concentração de butirato está reduzida nas DII.<sup>23</sup> Assim, é coerente notar que a atividade da doença é inversamente proporcional à abundância destas bactérias.<sup>24</sup>

### **Limitações dos modelos animais das doenças inflamatórias intestinais**

Ao utilizar modelos animais para estudo das DII, há algumas limitações à extrapolação dos resultados para os humanos. Por exemplo, a *creeping fat* consiste numa hiperplasia de tecido adiposo mesentérico associado às zonas inflamadas do intestino que, embora comum na DC, não se observa nos modelos animais de inflamação intestinal.<sup>25</sup> As respostas imunes são diferentes entre murganhos e humanos, e os modelos animais não têm em conta algumas variáveis ambientais, tais como exposição a medicamentos ou fumo de tabaco. O recurso a *knockout* de genes de interesse é muito frequente, mas em humanos os alelos de risco raramente envolvem perda total de função, para além de que nos modelos apenas se analisa o efeito de genes isolados enquanto que, na realidade, as DII estão associadas a múltiplos alelos.<sup>26</sup>

### **Doenças inflamatórias intestinais: fatores de risco genéticos e a microbiota**

A componente genética do risco das DII é amplamente reconhecida. De facto, com o desenvolvimento de novas técnicas de sequenciação genética e a criação de amplas bases de dados, surgiram os estudos de associação genética, *Genome-Wide association studies*, que permitiram a identificação de mais de 200 polimorfismos genéticos, *Single nucleotide polymorphisms* (SNPs) de suscetibilidade às DII.<sup>27</sup> Estão implicados genes de deteção e resposta a antigénios bacterianos (NOD2), genes da autofagia (ATG16L1, IRGM) e genes da via *interleukin-23 receptor* (IL23R), que se relaciona com a diferenciação de linfócitos T helper 17 (Th17), entre muitos outros genes de suscetibilidade como se pode observar figura 2.



**Figura 2:** Heterogeneidade dos genes cujas mutações estão associadas a risco de DII. À esquerda encontram-se os genes de risco apenas para a DC; à direita, os genes de risco apenas para a CU; no centro, os genes de risco para ambas as doenças, incluindo alguns genes relacionados com *T helper* 1 (Th1) e Th17. Alguns destes são relevantes na função das células linfoides inatas (ILCs), células com um papel crucial emergente na inflamação intestinal para ambas as doenças. Adaptado de Biancheri *et al.* 2013.<sup>28</sup>

No entanto, estes genes apenas explicam uma pequena parte da hereditariedade, sugerindo a influência de interações gene-gene ou ambiente-gene.<sup>29</sup> Aliás, as diferenças na composição da microbiota entre gémeos homozigóticos, em que apenas um está diagnosticado com DII, apontam para a relevância da microbiota na patologia das DII, independentemente de fatores genéticos.<sup>30</sup>

É de notar que os genes de risco para as DII que estão bem estabelecidos na população caucasiana não demonstram associação em estudos com populações asiáticas, apontando para diferentes arquiteturas genéticas consoante as etnias.

## I. NOD2

O *Nucleotide-binding oligomerization domain* (NOD) é um recetor intracelular de reconhecimento de padrões (PRR) que reconhece perfis moleculares associados a patógenos como as flagelinas, lipopolissacarídeo e o peptidoglicano (PGN), desencadeando uma resposta imune inata. Derivado de PGN, o muramil dipeptídeo (MDP) está presente na parede celular de bactérias gram-positivas e gram-negativas e é ligando do NOD2. O recetor NOD2 é fundamental para a manutenção da integridade da barreira epitelial intestinal ao regular a produção de peptídeos antimicrobianos pelas células de Paneth e a autofagia, através da sua capacidade de recrutar *autophagy-related protein 16-like 1*

(ATG16LI).<sup>31</sup> Este recetor regula a translocação e adesão bacteriana à mucosa intestinal por influência da abertura das *tight-junctions* epiteliais e da permeabilidade paracelular. Em murganhos *Nod2*<sup>KO</sup> foi recentemente reportado um aumento da translocação bacteriana de bactérias gram-positivas, gram-negativas e de *Saccharomyces cerevisiae*, especialmente nas placas de Peyer do íleo.<sup>32</sup> Além disso, verificou-se que a colonização por AIEC é facilitada em murganhos *Nod2*<sup>KO</sup>.<sup>33</sup>

O NOD2, sendo um recetor de reconhecimento de perfis de patógenos, após o reconhecimento despoleta a resposta imune, pelo que mutações que comprometam esta função têm impacto na defesa contra variados patógenos incluindo *Yersinia enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. pestis* e *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*, este último com capacidade de modular a resposta imune inata.<sup>34</sup>

É crucial mencionar o papel do NOD2 na deteção de stresse do retículo endoplasmático (RE). Alguns patógenos como *Brucella abortus*, *B. melitensis* e *Listeria monocytogenes* podem desencadear stresse do RE.<sup>35</sup> Para restaurar a homeostasia, os macrófagos e células epiteliais infetadas ativam a *unfolded protein response* (UPR), que consiste na indução de mecanismos de reparação do RE como a autofagia, degradação proteica e expressão de genes de resposta imune.

O papel do NOD2 no reconhecimento de patógenos, na manutenção da função barreira da mucosa e integridade funcional das células de Paneth e células caliciformes (CC), na regulação da translocação bacteriana e na *downregulation* de respostas Th1, implica-o intimamente com a disbiose, incapacidade de reconhecimento de patógenos e inflamação. Efetivamente, o *Nod2* influencia a composição da microbiota mesmo em indivíduos saudáveis.<sup>36</sup>

## 2. Mucina 2

O muco intestinal tem um papel fundamental na comunicação entre a mucosa e os microrganismos que habitam o intestino. O seu principal constituinte são as mucinas, glicoproteínas de elevado peso molecular, sendo a mucina 2 (MUC2) a principal mucina secretada ao nível intestinal. No cólon, o muco dispõe-se numa camada externa habitada pelas bactérias comensais, e numa camada interna que impede as comensais de contactarem diretamente com o epitélio, e de despoletarem respostas imunes.<sup>37</sup>

A função barreira e o controlo da exposição a antígenos são evidenciados em modelos de murganhos *knockout* em *Muc2* que apresentam deficiência na estimulação do sistema imunitário e indução de resposta inflamatória crónica intestinal.<sup>38</sup> O muco é também

fundamental na prevenção da autodigestão, possuindo hidratos de carbono complexos que impedem o acesso e degradação do epitélio por proteases endógenas. Adicionalmente, existem evidências de que o muco tem a capacidade de induzir sinais tolerogénicos pelas células dendríticas.<sup>39</sup> De facto, após a captação de MUC2 por células dendríticas, os oligossacáridos da MUC2, estas células seriam marcadas pelos oligossacarídeos da MUC2, interferindo com a sua expressão de citocinas inflamatórias, mas não as tolerogénicas.

A meta-análise reportada recentemente por Tadesse *et al.* 2017,<sup>38</sup> sugere que em doentes com DC ocorre um aumento da viscosidade do muco, diminuição da sulfonação dos seus oligossacáridos, redução do número de CC e da expressão de mucina I e mucina 4, verificando-se o inverso na CU.

Na ausência de MUC2, há estimulação da UPR em resposta ao aumento de fagócitos produtores de espécies reativas de oxigénio (ROS) e da *upregulation* das enzimas produtoras de ROS expressas pelas células epiteliais intestinais. Em murganhos *Muc2<sup>KO</sup>*, os lactobacilos estão em maior número e promovem a produção de ROS por enterócitos e a proliferação e migração de células epiteliais. Assim, ao estimular a produção epitelial de ROS, a microbiota pode modular a proliferação do epitélio.<sup>40</sup>

O muco regula o despoletar de resposta imune às bactérias, mas as bactérias possuem também a capacidade de regular as funções do muco e modelar a resposta imune.

### 3. Os genes da autofagia

A autofagia consiste numa via intracelular de degradação e reciclagem de material citoplasmático com papel importante na homeostasia celular e na imunidade. Inicia-se com a formação de fagóforos que envolvem parte do citoplasma e, após fusão com lisossomas, dão origem aos autofagossomas, que degradam organelos ou proteínas citosólicas. Os genes relacionados com a autofagia têm um importante papel no combate a microrganismos, na produção de produtos antimicrobianos por células caliciformes e células de Paneth e no reconhecimento antigénico, com possível associação a disbiose e inflamação intestinal.

O gene *ATG16L1* está associado a risco da DC. A mutação hipomórfica deste gene não produz inflamação intestinal espontânea em murganhos, mas a ausência deste gene, quer em humanos quer em murganhos, resulta em anomalias funcionais das células de Paneth.<sup>41</sup> A variação genética SNP rs2241880 (variante T300A) é muito comum e relaciona-se com defeitos morfológicos das CC e das células de Paneth e elevado stresse do retículo endoplasmático. Há autores que demonstraram que esta variante se encontra no local de

clivagem da enzima CASP3, e que sinais de stresse metabólico ou infeção por *Yersinia enterocolitica* resultam no aumento da degradação de ATG16LI dependente de CASP3.<sup>42</sup>

Uma deficiente autofagia compromete o combate a patogénios, nomeadamente a xenofagia por macrófagos, permitindo às bactérias iludir as defesas do organismo e invadir as células epiteliais intestinais, possivelmente originando uma infeção sistémica. A disfunção da ATG16LI compromete a capacidade de formação de autofagossomas e, portanto, diminui o *uptake* de antigénios, a sua apresentação ao sistema imune e a *clearance* de bactérias, resultando num estado de inflamação que pode influenciar a composição da microbiota, por exemplo com favorecimento de *E. coli* aderente-invasiva e *Y. enterocolitica*. De facto, a autofagia é especificamente ativada por organismos invasores, mas não por bactérias não-invasoras como *Lactobacillus salivarius*.<sup>43</sup> A deteção bacteriana pela autofagia promove a defesa contra patogénios.

O gene IRGM é promotor da iniciação da autofagia, tendo sido reportado que em murganhos *knockout* para este gene (*IRGM<sup>KO</sup>*) há diminuição dos níveis celulares dos genes de autofagia ATG14 e ATG16LI. O NOD2 promove a oligomerização do IRGM, e o IRGM promove a autofagia de NOD2. Na presença de uma infeção bacteriana, a expressão celular de apenas NOD2 sinaliza fortemente para inflamação, mas a co-expressão de IRGM tipo selvagem reverte-a. Assim, o IRGM reduz os níveis de NOD2 e os seus sinais, prevenindo respostas imunes exacerbadas nefastas para o organismo.<sup>44</sup> A tolerância a perfis moleculares associados a patogénios, como MDP, é importante na prevenção do choque séptico, o que é em parte permitido pela degradação do NOD2.

#### 4. PTPN2 e PTPN22

A *protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22* (PTPN22) consiste numa tirosina-fosfatase que inibe a sinalização dos recetores de linfócitos T e é considerada um fator de risco para doenças autoimunes. Uma meta-análise recente relacionou o polimorfismo rs2476601 no gene PTPN22 à DC, mas não à CU, todavia não há ainda consenso sobre o impacto positivo ou negativo de mutações deste gene na DC.<sup>45</sup> De facto, há atualmente 2 modelos propostos para a SNP rs2476601 do gene *PTPN22*, o modelo da perda de função e o modelo do ganho de função da respetiva proteína, pois por um lado observa-se um aumento da atividade da fosfatase, *in vitro*, mas também se observam efeitos na regulação de linfócitos T semelhantes ao observado no *knockout* do gene, *in vivo*. É possível que estes efeitos decorram da alteração da especificidade do substrato. Há autores que defendem o



ganho de função na ativação da NLRP3 e do inflamassoma, com a simultânea perda de função na expressão de interferão tipo I e secreção de IL-6.<sup>46</sup>

A PTPN2 protege a barreira epitelial intestinal ao diminuir a sua permeabilidade, e limita a sinalização de citocinas pró-inflamatórias. Esta proteína é também relevante na formação de autofagossomas, observando-se que com silenciamento do gene que a codifica há disfunção da autofagia, levando como resposta à libertação de mediadores inflamatórios fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interferão gama (IFN- $\gamma$ ).<sup>47</sup>

Um estudo de coorte recente demonstrou que as variantes alélicas do gene *PTPN22* associadas a risco para a DC, e de *PTPN2* associadas a DC e CU, são modeladoras da composição da microbiota.<sup>48</sup> A variante de *PTPN2* associa-se a aumento relativo nas populações dos géneros *Clostridiales* e *Lachnospiraceae*, com diminuição de *Roseburia*, na DC. Já *PTPN22* está relacionado com aumento de *Ruminococcus*. Assim, é razoável propor que estas proteínas podem estar na origem de alterações na microbiota que favorecem o desenvolvimento de DII, embora possam originar alterações na microbiota sem originar doença.<sup>48</sup> O mecanismo subjacente parece estar relacionado com o facto das variantes de *PTPN2* (rs478582) e de *PTPN22* (rs2476601) estarem associadas a menor regulação negativa de linfócitos T, resultando em elevada produção de citocinas pró-inflamatórias e consequente inflamação intestinal na DC. Nestas variantes, observa-se um aumento da suscetibilidade a bacteriemia por *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis*, pois esta bactéria sobrevive nos macrófagos infetados e a desregulação nos genes *PTPN2/22* induz a hiperatividade dos linfócitos T e dos macrófagos, fornecendo novos hospedeiros para esta bactéria. Assim, estas SNPs aumentam a suscetibilidade a patogénios intracelulares.<sup>49</sup>

### **Doenças inflamatórias intestinais: fatores de risco ambientais**

Estudos epidemiológicos têm evidenciado um aumento da incidência das DII a acompanhar o desenvolvimento das sociedades, tendo como exemplo os países asiáticos. Por ocorrer tão repentinamente, este aumento não ser devido a mudanças na composição genética das populações. Os fatores ambientais são evidenciados como fatores de risco das DII em estudos com grupos de emigrantes, pois os seus filhos adquirem o perfil de risco da nova sociedade, mas os seus pais mantêm o perfil de risco da sociedade de origem.<sup>50</sup>

Dos fatores de risco ambientais das DII, destacam-se a seguir alguns dos mais relevantes.

## **I. Tabagismo e cessação tabágica**

De entre os fatores ambientais de risco de DII, o hábito de fumar é o mais estudado. Alguns estudos defendem um efeito protetor no desenvolvimento da CU. Já na DC é proposto o efeito oposto, constituindo um fator de risco para a doença e estando associado a pior prognóstico pós-operativo.<sup>51</sup> No entanto, um estudo recente desencoraja fumar quer na CU quer na DC, pois embora comprove os efeitos nefastos de fumar na DC, não observa efeitos benéficos para a CU.<sup>52</sup>

A interação entre o NOD2 e o tabagismo foi alvo de uma meta-análise recente na qual se constatou que o risco de desenvolvimento de DC é semelhante entre fumadores e ex-fumadores, sendo em ambos superior a indivíduos que nunca fumaram.<sup>53</sup> Alguns autores afirmam demonstrar uma associação negativa entre fumar e o NOD2, específica para a mutação I007fs, que resulta na proteína NOD2 truncada na zona de reconhecimento do peptidoglicano bacteriano.<sup>54</sup>

Um outro estudo recente evidenciou não só a associação entre a atividade de fumar ao IL23R<sup>53</sup>, mas também que variantes no gene aumentam a suscetibilidade para DC ao nível do íleo, numa relação aditiva com o tabagismo. Também foi reportado que o gene IL-10 aumenta o risco de ileíte e colite após exposição a fumo de tabaco.<sup>55</sup>

Por outro lado, fumar altera profundamente a composição da microbiota. Na cessação tabágica observa-se uma redução na abundância das bactérias dos filos Bacteroidetes e aumento nos filos Firmicutes e Actinobacteria.<sup>56</sup> No entanto, é necessária a realização de estudos de longa duração, com rigoroso controlo de variáveis externas como a dieta, para melhor compreender os mecanismos pelos quais o tabagismo afeta a microbiota, já que atualmente não estão esclarecidos.

## **2. Vitamina D e dieta**

O papel da vitamina D na imunologia tem recebido atenção crescente, com estudos a apontar, por um lado, para a deficiência em vitamina D como fator de risco para as DII, e por outro para o benefício da suplementação desta vitamina na terapêutica da DC.<sup>57</sup>

Alguns autores referem uma influência positiva da vitamina D na microbiota específica da DC que não se verifica na microbiota de indivíduos saudáveis. Assim, a administração desta vitamina pode modular a composição bacteriana intestinal, favorecendo estirpes benéficas, e ser usada para tratamento da DC. Neste sentido, Schäffler *et al.* 2018,<sup>11</sup>

reportaram que a administração de vitamina D a doentes com DC levava a um aumento considerável da presença de *Alistipes*, *Barnesiella* e *Roseburia* e outros Firmicutes.<sup>58</sup>

Quanto à dieta, pelo seu efeito na composição da microbiota, constitui uma opção terapêutica nas DII. Os modelos animais demonstram que uma dieta ocidental, caracterizada por ser rica em açúcares e gorduras tem impacto na composição da microbiota, podendo desta forma desencadear as DII.<sup>25</sup> Por outro lado, longos períodos temporais de dietas ricas em fibra e hidratos de carbono favorecem o aumento de bactérias do género *Prevotella*, cuja presença é reduzida em dietas ocidentais. Um aumento em *Prevotella* está associado a diminuição em *Bacteroides* e vice-versa, o que pode ter utilidade no prognóstico das DII já que *Bacteroides* aparenta estar relacionada com a doença.<sup>59</sup>

Uma dieta ocidental induz alterações na microbiota semelhantes às observadas na DC, como o aumento de bactérias mucolíticas (*Ruminococcus torques*, *Bacteroides* e *Prevotella*) e o aumento da permeabilidade do epitélio intestinal pela expressão aumentada de claudina-2, redução no número de CC e menor expressão de mucina. Estas alterações comprometem a função barreira do epitélio, facilitando a translocação bacteriana e o maior contacto de microrganismos com o epitélio.

Num estudo longitudinal pediátrico da DC observaram-se alterações na microbiota que variaram consoante o tipo de tratamento: nutrição exclusivamente entérica ou terapia anti-TNF.<sup>60</sup> Nenhum dos tratamentos resolveu totalmente a disbiose, mas permitiu constatar o diferente impacto de cada um na microbiota. Nas crianças onde o tratamento obteve maior sucesso, a microbiota assemelhou-se mais à dos controlos saudáveis. O estudo evidenciou que a nutrição exclusivamente entérica provocou alterações na microbiota e em grande extensão, associado à redução na inflamação mediada pela redução em *regulatory T-cells* (Treg) ao nível intestinal.<sup>61</sup>

Os aditivos alimentares podem originar ou agravar a inflamação intestinal, nomeadamente o alumínio e o dióxido de titânio que podem ser encontrados em muitos alimentos processados e produtos de higiene utilizados no quotidiano.<sup>62</sup> Em estudos com murganhos foi demonstrado provocarem agravamento da colite experimentalmente induzida, por disrupção da função barreira do epitélio. Foi demonstrada a acumulação destes aditivos nas placas de Peyer, o que pode aumentar a severidade da inflamação e contribuir para recidivas.

### 3. Fármacos anti-inflamatórios não esteróides, contraceptivos orais combinados e antibióticos

As lesões na mucosa gastrointestinal são um efeito adverso bem conhecido dos anti-inflamatórios não esteróides (AINEs). Recentemente, um estudo de coorte prospetivo reportou um maior índice de atividade da DC, mas não da CU, quando há mais de 4 tomas mensais ou quando as doses são elevadas.<sup>63</sup> No entanto, há resultados discordantes em alguns estudos. Assim, é necessária mais investigação para determinar se é justificável a restrição total de uso de AINEs nestes doentes.

Os fármacos contraceptivos orais combinados estão positivamente associados a risco de CU e significativamente de DC, risco este que desaparece com a interrupção da toma. O risco de recidiva está muito aumentado na DC, especialmente quando associado a tabagismo, e aumenta com o tempo de exposição ao tabaco.<sup>62</sup>

Quanto aos antibióticos, nas DII são uma escolha terapêutica racional para a redução da elevada carga bacteriana e para favorecer a presença de bactérias benéficas, tais como *Faecalibacterium*, em detrimento de espécies patogénicas, como *Shigella*. No entanto, a exposição a antibióticos cedo na infância está associada a alterações duradouras na microbiota, potencialmente constituindo um risco para a DC, mas não para a CU.<sup>64</sup> Mas uma revisão sistemática por Khan *et al.* 2011,<sup>65</sup> refere que o tratamento antibiótico induziu remissão na DC e CU superior ao placebo, e há evidência de que o uso de antibióticos permite a remissão de CU sem recurso a esteróides.<sup>66</sup> No entanto, nesta patologia os estudos com antibióticos são insuficientes e mostraram resultados contraditórios, embora num estudo pediátrico recente a associação de amoxiciclina, doxiciclina, metronidazole e vancomicina tenha evidenciado resultados favoráveis com remissão clínica total, ainda que numa amostra reduzida.<sup>67</sup> Assim, quer pela elevada diversidade na população humana, quer pela variedade fenotípica das DII, os resultados da terapêutica com antibióticos são inconsistentes. No entanto, embora seja necessária mais investigação relativa à eficácia, segurança e mecanismos de interação com a microbiota, os antibióticos são uma opção terapêutica nas DII, quer por redução da carga bacteriana, quer pela indução da remissão.

### 4. Higiene, poluição, stresse

De acordo com a “hipótese da higiene” as condições do estilo de vida são relevantes na incidência e desenvolvimento das DII pela sua influência na microbiota, já que uma maior

higienização diminui a variedade da microbiota. No entanto, esta hipótese não é aplicável a todos os tipos de populações, além de que o conceito de "higiene" é difícil de mensurar.<sup>68</sup>

A poluição do ar como fator de risco para as DII surgiu pela observação do rápido incremento da incidência destas doenças nos países asiáticos recentemente industrializados, sugerindo que a inalação de poluentes ou o contacto com estes na água ou na comida pode aumentar o risco de DII,<sup>62</sup> mas são necessários mais estudos para confirmar esta associação.

Quanto ao stresse, não há evidência concreta de que este seja um fator de risco para as DII. No entanto, alguns estudos associam o stresse a recidivas nas DII e níveis reduzidos de stresse a um menor número de reativações.<sup>69</sup>

## **A microbiota nas doenças inflamatórias intestinais**

### **I. Função barreira do epitélio intestinal, células caliciformes e células de Paneth**

A extensa superfície do trato gastrointestinal compreende entre 300–400 m<sup>2</sup>, servindo de interface às complexas interações entre a microbiota e o sistema imunitário.<sup>4</sup>

O epitélio intestinal é constituído por enterócitos, células enteroendócrinas, células caliciformes (CC) e células de Paneth e constitui uma barreira contra a translocação bacteriana para a lamina propria. Está coberto por uma camada de muco produzido pelas CC que serve de barreira. Os péptidos antimicrobianos produzidos pelas CEI e células de Paneth e a imunoglobulina A fundem-se com o muco secretado pelas criptas intestinais e formam um gradiente antibacteriano que mantém as bactérias afastadas da superfície epitelial.

A integridade da barreira mucosa depende de junções aderentes, desmossomas e *tight junctions*. Um aumento da permeabilidade e translocação bacteriana resulta em ativação duradoura do sistema imunitário e consequente inflamação. Assim, a deficiência ou disfunção de proteínas associadas a estas junções celulares podem estar associadas às DII. De facto, observa-se que na DC há níveis reduzidos da molécula de adesão juncional A (JAM-A), uma *upregulation* da claudina 2, proteína formadora de poros nas *tight junctions*, e diminuição das claudinas 3 e 4, que selam estes poros.<sup>70</sup> Adicionalmente, a autofagia tem um papel relevante na regulação da permeabilidade das *tight junctions* pois direciona a claudina-2 para degradação lisossomal, assim fortalecendo estas junções e a barreira epitelial,<sup>71</sup> e há evidência de que a autofagia está alterada nas DII.

De referir que em duas colónias de murganhos com as mesmas condições *Specific pathogen free* (SPF), criadas em jaulas diferentes, foram observadas diferenças na composição

da microbiota e nas propriedades do muco, específicas para cada colónia. Enquanto uma colónia apresentava uma camada de muco interna impenetrável a bactérias, na outra esta camada era permeável. Adicionalmente, o estudo demonstrou a transmissão das propriedades do muco por transferência da microbiota fecal para murganhos *germ free* (GF).<sup>72</sup> Assim, a microbiota pode influenciar as propriedades do muco e, conseqüentemente, a barreira epitelial intestinal.

Além disso, as  $\alpha$ -defensinas, péptidos antimicrobianos, podem regular a composição da microbiota do intestino delgado, havendo estudos que indicam a diminuição de Firmicutes e o proporcional aumento de *Bacteroides* em murganhos produtores da defensina humana 5, quando comparados com controlos tipo selvagem.<sup>73</sup> O inverso foi igualmente verificado, isto é, em murganhos com deficiente produção de defensinas, houve aumento em Firmicutes e diminuição proporcional em *Bacteroides*. As defensinas formam um gradiente desde o seu local de secreção, impedindo o contacto dos microrganismos com o epitélio, pelo que anomalias génicas com comprometimento da produção destes péptidos prejudicam a função barreira do epitélio intestinal, favorecendo a inflamação.

## 2. Deteção de bactérias e resposta imune

A nível intestinal, há vários sensores de patogénios desde *toll-like receptors* (TLRs), *Nod-like receptors* (NLRs), células dendríticas, macrófagos, células de Paneth e CEI. A ativação de NF- $\kappa$ B e do inflamassoma, por sinalização de TLRs e NLRs, leva à secreção de citocinas inflamatórias e ativação de *T-helper type 1 cells* (Th1). As DII estão associadas a uma resposta inflamatória exacerbada, com morte epitelial e de células produtoras de muco, comprometendo a função barreira e facilitando a translocação bacteriana, o que reforça a resposta imune já ativa.

Seguidamente, são referidas as funções das células linfoides inatas (ILCs) na patogénese das DII, assim como o papel da tolerância imune mediada pelos linfócitos T-reguladores (T-reg) no controlo da inflamação e na prevenção de inflamação crónica, como parte de uma complexa resposta imune ainda não totalmente clarificada.

### a. Linfócitos T-reguladores

Devido ao elevado número de comensais, é fundamental evitar a excessiva estimulação do sistema imunitário para prevenir uma resposta inflamatória exacerbada. Os macrófagos intestinais, ao contrário dos macrófagos periféricos, não libertam citocinas pró-inflamatórias como mecanismo de defesa, mas recorrem à fagocitose e à sua atividade

bactericida. Tal resulta parcialmente dos linfócitos Treg, que causam a *downregulation* dos recetores de reconhecimento de perfis moleculares e inativação do NF- $\kappa$ B. No mesmo sentido, as células dendríticas intestinais possuem propriedades tolerogénicas, induzindo uma resposta de tolerância por diferenciação e expansão dos linfócitos Treg.<sup>74</sup> Há bactérias que estimulam a diferenciação de Treg e secreção de IL-10, por sinalização do *Transforming Growth Factor* (TGF- $\beta$ ).

Os linfócitos Treg são um subtipo de linfócitos Th que, tal como Th17, são induzidos por TGF- $\beta$ . Estes linfócitos estão envolvidos em respostas tolerogénicas, sendo fundamentais para prevenir a autoimunidade, mas também na regeneração de tecidos e na resposta por imunoglobulinas tipo A, a nível intestinal. A proteína FOXP3, da família *forkhead box P3*, é um fator de transcrição fundamental à produção e ao normal funcionamento dos linfócitos Treg, pelo que as mutações no gene *FOXP3* estão associadas a colite.<sup>75</sup>

Enquanto que os estudos iniciais das DII incidiam no paradigma Th1/Th2, há agora um foco no paradigma Th17/Treg, uma vez que alguns resultados experimentais apontam para a plasticidade entre estes dois tipos de linfócitos T, em condições inflamatórias.<sup>76</sup> No entanto, são necessários mais estudos sobre os mecanismos de diferenciação e plasticidade de Th17.

De referir que o equilíbrio entre a produção de Th17 e Treg está o limiar entre a inflamação e a tolerância. Ao influenciar a produção destes linfócitos, a microbiota tem a capacidade de manipular a homeostasia intestinal. *Bacteroides fragilis* e algumas estirpes de Clostridia conseguem aliviar a inflamação intestinal através da estimulação da produção de Treg. *B. fragilis* é um patobionte com capacidade de alterar a homeostasia dos linfócitos T para facilitar a sua colonização. Através do seu polissacarídeo da cápsula, estimula a conversão de linfócitos TCD4+ em Treg Foxp3+, produtores de IL-10, e suprime a resposta mediada por Th17. Experimentalmente, observa-se que através deste polissacarídeo o *B. fragilis* previne e melhora a colite.<sup>77</sup> Assim, esta estirpe bacteriana poderá ter um papel na diferenciação de Treg e na indução de respostas de tolerância. Por outro lado, a sua toxina *B. Fragilis toxin* (BFT), uma metaloprotease, pode provocar alterações nas *tight junctions* e na permeabilidade do epitélio, possivelmente associado às DII.

Quanto às bactérias da classe Clostridia, a maioria é comensal, mas as espécies *Clostridia perfringens*, *Clostridia difficile* e *Clostridia tetani* são patogénicas. No entanto, foi reportado que a colonização de murganhos GF com determinadas misturas de estirpes de Clostridium induz aumento dos linfócitos Treg ao nível do intestino, o que pode revelar um papel potencial nas DII.<sup>78</sup>

Refiro ainda que a resposta a patogénios requer linfócitos Th17 e Th1. Porém, a produção de Th17 requer a presença de um estímulo bacteriano. IL-10 suprime a produção

de Th17, e a deficiência em IL-10 resulta na sua produção aumentada.<sup>79</sup> De facto, IL-10 são citocinas anti-inflamatórias que suprimem respostas imunes contra bactérias comensais, mas permitem a defesa do organismo contra patógenos. O modo como ocorre a distinção entre os dois tipos de bactérias ainda não está elucidada, mas é provável que decorra do reconhecimento de comportamentos específicos de patógenos. A resposta a comensais e patógenos é qualitativa e quantitativamente distinta. Exemplifique-se que na resposta a comensais há produção muito localizada de imunoglobulina do tipo A, com baixo potencial de danos tecidulares e boa tolerância pelo hospedeiro.

#### b. ILCs, Th17, IL23

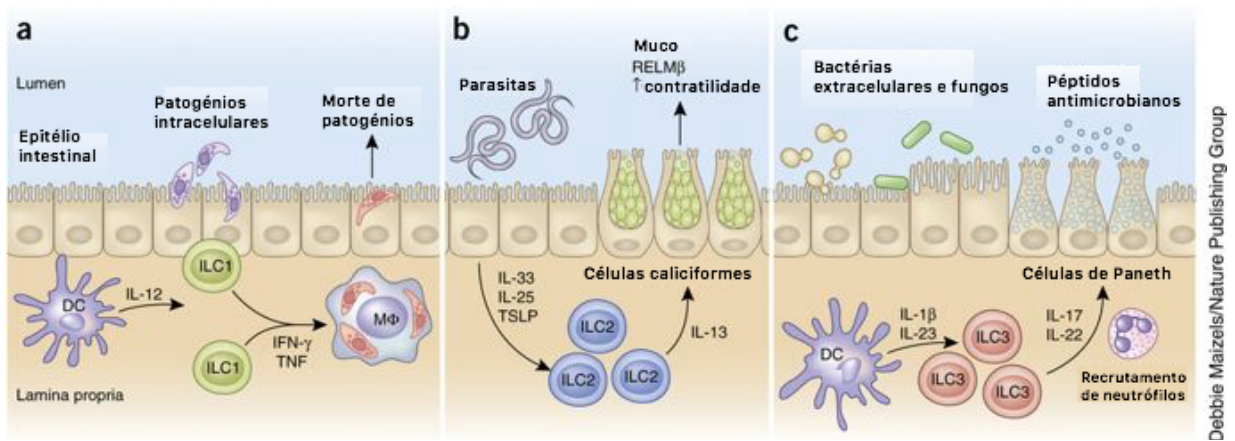
As células dendríticas intestinais produzem a citocina pró-inflamatória IL-23, que promove a diferenciação de linfócitos Th17 e de células linfóides inatas tipo 3 (ILC3).

As ILCs, um subtipo de linfócitos recentemente identificado, possuem propriedades intermédias entre as células da resposta imune adquirida e as células mieloides, sendo caracterizadas pela ausência em recetores antigénio-específicos, isto é, embora tenham origem linfocitária, não expressam recetores antigénicos de superfície gerados por recombinação somática.<sup>80</sup> As ILC3 incluem as células indutoras de tecido linfoide (LTi), e células que expressam o recetor de citotoxicidade natural (NCR). Estas células expressam *Retineic-acid receptor gamma* (ROR $\gamma$ t), respondem às citocinas IL-1 $\beta$  e IL-23 e produzem IL-17 e IL-22.

As células linfóides inatas são relevantes no controlo sobre a microbiota comensal e sobre a inflamação, como foi demonstrado num estudo onde a depleção de ILCs resultou em inflamação sistémica, em murganhos, por disseminação de uma bactéria do género *Alcaligenes*. A administração de IL-22 evitou esta inflamação, sugerindo que as ILCs limitam a disseminação bacteriana.<sup>81</sup> Assim, ao produzir IL-22 e IL-17, as células linfóides inatas tipo 3, ou ILC3, são relevantes na reparação de tecidos e na inflamação pois promovem o recrutamento de neutrófilos e a produção de muco e de peptídeos antimicrobianos da família de proteínas regeneradoras (REG), tais como REGIII $\gamma$  e REGIII $\beta$ . A regeneração, para além de limitar a inflamação, evita a reinfeção e restaura a homeostasia.<sup>82</sup>

Veja-se de modo geral o mecanismo de resposta de cada subgrupo de células linfóides inatas na figura 3.





**Figura 3:** As células linfóides inatas (ILCs) promovem inflamação e imunidade inata. a) As ILCs promovem respostas imunes inatas a patógenos intracelulares, com a produção de IL-12 pelas células dendríticas (DC) e como resposta há produção do fator de necrose tumoral e interferão gama. Deste modo, são recrutadas as células mielóides inflamatórias. b) A infecção por parasitas helmíntes promove a produção de IL-33, IL-25 e *thymic stromal lymphopoietin* (TSLP), o que aumenta a contratilidade do músculo liso e a produção de muco pelas células caliciformes. c) Em resposta a IL-23 e IL-1 $\beta$  produzidos pelas células dendríticas, as ILC3s produzem IL-17 e IL-22. Assim, é promovida a resposta inata a fungos e bactérias extracelulares, com recrutamento de neutrófilos e produção de péptidos microbianos pelas células epiteliais intestinais. Adaptado de Sonnenberg e Artis, 2015.

O papel das ILC3 pode envolver também o sistema imune adaptativo. O estudo de Mortha *et al.* 2014,<sup>83</sup> reporta as ILC3 como fonte intestinal do fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF), o que influencia a produção dos linfócitos reguladores e está associado ao desenvolvimento de tolerância às bactérias comensais. No entanto, os estudos não são consistentes sobre a influência da microbiota no desenvolvimento das ILC3, alguns indicando a possibilidade de certos subtipos de ILCs se desenvolverem independentemente da microbiota; porém, outros reportam a influência da microbiota comensal no desenvolvimento de ILCs NCR<sup>+</sup> e ROR $\gamma$ t<sup>+</sup>, indicando que as comensais favorecem o seu desenvolvimento e a produção de IL-22, contribuindo para a homeostasia epitelial.<sup>84</sup>

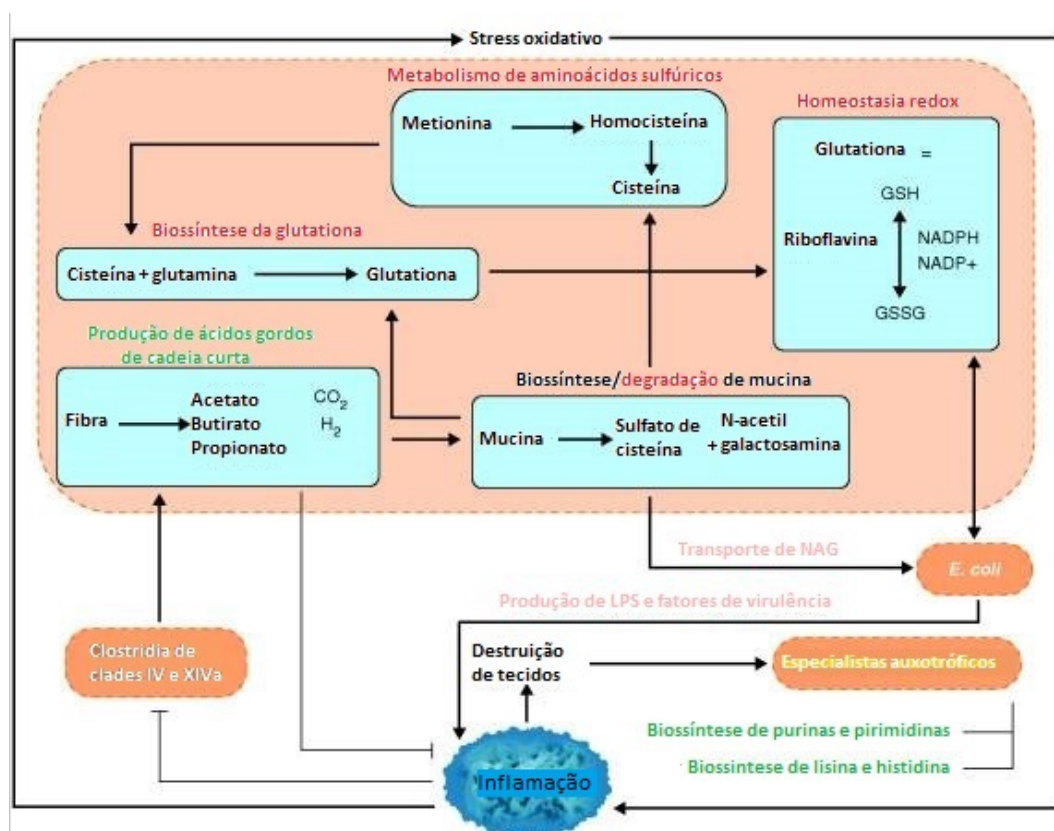
A regulação das ILCs pelas comensais pode ser direta. Por exemplo, as células *natural killer* humanas expressam TLR2, cujos agonistas bacterianos estimulam as ILCs ROR $\gamma$ t<sup>+</sup>. Tal leva à produção de IL-2 e IL-22. Indiretamente, as comensais influenciam as ILCs ao despoletar sinais geradores de citocinas. Por exemplo, as comensais capturadas por células dendríticas induzem a produção de IL-12, que estimula a produção de IFN- $\gamma$  em ILC1 e induz um aumento da fagocitose.<sup>85</sup>

Os murganhos *Tbet*<sup>-/-</sup> *RAG2*<sup>-/-</sup> *ulcerative colitis* (TRUC) são modelos de CU com deficiência em dois genes, o que leva ao comprometimento da resposta imune inata e adaptativa, aumento da presença de espécies patogênicas, ativação de células produtoras de IL-23, TNF e ILC3, apoptose das CEI e colite. Foi observado que a co-habitação destes murganhos com murganhos tipo selvagem transmitiu a colite, demonstrando o potencial da

sua microbiota em provocar inflamação intestinal. Os organismos responsáveis serão *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia* e *Helicobacter typhlonius*.<sup>86</sup>

### 3. Metabolismo microbiano e o impacto dos seus metabolitos nas doenças inflamatórias intestinais

O ser humano beneficia dos processos metabólicos bacterianos a nível intestinal, como a síntese de vitaminas e a degradação de hidratos de carbono complexos. O estudo do metaboloma permite analisar o efeito de alterações nas vias metabólicas bacterianas na patogénese das DII, o que pode ser mais elucidativo que as alterações da composição bacteriana. De facto, nas DII há um aumento da diversidade funcional da microbiota. Morgan *et al.* 2012,<sup>87</sup> verificaram que nas DII há discrepância das vias metabólicas bacterianas em relação às que ocorrem em indivíduos saudáveis, havendo redução do metabolismo dos hidratos de carbono, da biossíntese de nucleótidos e da síntese de alguns aminoácidos. Por outro lado, as vias patogénicas e de secreção estão mais ativas, assim como há maior expressão de genes relacionados com o stresse oxidativo, como o da glutatona. Para uma síntese das vias envolvidas, veja-se a figura 4.



**Figura 4:** Possível papel do metabolismo da microbiota nas DII. A azul, os processos mediados pelo hospedeiro que, ao contribuírem para um ambiente oxidativo, promovem a maior abundância de Enterobacteriaceae e a menor abundância de espécies de Clostridia. A laranja, grupos bacterianos de interesse;

os processos mediados pelas bactérias e que estão diminuídos nas DII encontram-se a verde e os processos que estão aumentados, a vermelho. Nas caixas de texto azuis estão as várias vias metabólicas. GSH, glutathiona reduzida; GSS, glutathiona oxidada; LPS, lipopolissacarídeo; NAG, N-acetilglicosamina. Adaptado de: Morgan et al. 2012.<sup>87</sup>

A ausência de processos metabólicos essenciais é uma característica das bactérias auxotróficas como, por exemplo, as *Segmented filamentous bacteria* (SFB), observando-se a ausência de genes relacionados com a biossíntese de nucleótidos e de muitos dos aminoácidos e vitaminas.<sup>88</sup> Nos roedores, estas bactérias estão associadas à maturação dos linfócitos Th17. Tal ausência resulta num moderado efeito pró-inflamatório, possivelmente contribuindo para as DII, mas simultaneamente pode limitar o crescimento de patógenos como *Citrobacter rodentium*. Em humanos, a colonização por SFB está relacionada com a idade do hospedeiro, sendo observada apenas em crianças de idade inferior a 3 anos e com maior presença entre 7-12 meses de idade. No entanto, um estudo recente reportou igual presença das SFB em crianças saudáveis e crianças com CU, contestando a associação entre a colonização por SFB com a CU pediátrica.<sup>89</sup> Assim, tornam-se necessários mais estudos, já que estas bactérias são um potente estimulador do sistema imunitário, como estimulador seletivo do grupo II do complexo major de histocompatibilidade nas CEI.

De referir que o recetor FXR (*Farnesoid X Receptor*) tem um efeito protetor contra a inflamação provocada experimentalmente e é sinalizado pelos sais biliares.<sup>90</sup> Uma vez que as bactérias têm a capacidade de modificar os sais biliares, recorrendo a hidrolases, a disbiose pode estar relacionada com a sinalização do FXR e com a inflamação intestinal.

Por outro lado, a produção de ácidos gordos de cadeia curta pelas bactérias é fundamental ao desenvolvimento de linfócitos Treg e, portanto, à imunidade do hospedeiro, evidenciando o papel da microbiota na imunidade do hospedeiro.<sup>91</sup> A fermentação bacteriana de fibras origina ácidos gordos de cadeia curta como butirato, acetato e propionato. O butirato tem a capacidade de inibir a ativação de NF-κB, diminuindo assim a expressão de citocinas pró-inflamatórias e a inflamação. É também agonista do recetor GPR109A, um recetor acoplado à proteína G, cuja ativação resulta em efeitos anti-inflamatórios ao nível do cólon e induz a diferenciação de Treg. Murganhos *germ free* apresentam níveis significativamente inferiores de ácidos gordos de cadeia curta, e a administração destes restaura a homeostasia e função de Treg nestes murganhos.<sup>92</sup>

De referir ainda que o L-triptofano (Trp) tem um papel relevante na tolerância intestinal e na regulação da microbiota.<sup>93</sup> As mudanças na microbiota, ao modularem o metabolismo deste aminoácido, modulam o sistema imunitário do hospedeiro. Tanto o Trp como os seus metabolitos endógenos e os metabolitos bacterianos têm uma grande influência não só sobre a composição e função da microbiota como também nas interações

da microbiota com o sistema imunitário. Fatores como stresse e probióticos estão associados à variabilidade do metabolismo de Trp e, portanto, também influenciam a imunidade. No entanto, é necessária mais investigação para averiguar uma possível terapêutica direcionada para o triptofano ou os seus metabolitos no tratamento das DII.

#### 4. Diagnóstico com base nas alterações da microbiota

Uma vez que as DII estão associadas a alterações na composição da microbiota, é plausível que estas alterações sirvam de método de diagnóstico. Ao analisar a microbiota é possível caracterizar o perfil bacteriano associado às DII, monitorizar a progressão da doença, prever a ocorrência de recidivas e melhorar as terapêuticas.<sup>94</sup> Por constituir um melhor marcador, é preferível a utilização da microbiota da mucosa intestinal que a fecal. O GA-test (*GA-map Dysbiosis Test*) é um método de diagnóstico baseado na identificação de bactérias para caracterização da disbiose, com recurso a sondas dirigidas às regiões variáveis do rRNA bacteriano 16S. Adaptado para uso clínico, serve para indicar o grau de divergência entre a microbiota do doente e a microbiota saudável, de referência.<sup>95</sup> Porém, esta técnica é prematura para aplicação na prática clínica devido à grande variabilidade e à dispersão da composição da microbiota entre indivíduos com DII.

Na tabela 4 apresentam-se alguns exemplos de espécies bacterianas que poderão servir de marcadores de doença.

**Tabela 4:** Espécies microbianas associadas a subgrupos da população com risco de DII ou com doença ativa.

Subgrupo de população	Microbiota bacteriana associada
Baixo Risco	<i>Bacteroidales, Ruminococcaceae, Clostridiales, Erysipelotrichaceae, Bifidobacteriaceae</i>
Elevado Risco	<i>Enterobacteriaceae, Enterococcaceae, Lachnospiraceae (Blautia, Dorea), Prevotella</i>
Doença Ativa	<i>Enterobacteriaceae, Gemellaceae, Neisseriaceae, Pasteurellaceae, Fusobacteriaceae, Veillonellaceae</i>

Adaptado de Dubinsky e Braun, 2015.<sup>96</sup>

#### 5. Terapêuticas baseadas na manipulação da microbiota

A terapêutica habitual das DII pode consistir em aminossalicilatos, corticosteróides, imunossupressivos e terapêuticas biológicas, culminando na intervenção cirúrgica. Podem também ser utilizados antibióticos, por exemplo no tratamento de fístulas na DC. Além disso, a manipulação da microbiota pode ser também um alvo terapêutico.

a. Transplantação de microbiota fecal

A transplantação de microbiota fecal (FMT) é comprovadamente eficaz no tratamento da infecção por *Clostridium difficile*. Nesta situação verificou-se que, enquanto o tratamento antibiótico agrava a disbiose, não sendo por isso uma boa opção terapêutica, a FMT restaura o equilíbrio da microbiota.<sup>97</sup> A FMT é mais eficaz no tratamento da infecção por *Clostridium difficile* do que nas DII, talvez pela complexidade destas doenças e pela influência de múltiplos fatores genéticos, ambientais e imunológicos.

No tratamento da CU com recurso a FMT foram observados resultados variáveis. Moayyedi *et al.* 2015,<sup>98</sup> demonstraram que a FMT altera a composição e aumenta a diversidade da microbiota, que é dependente do doador da matéria fecal. Esta técnica mostrou-se mais eficaz em doentes recém diagnosticados com CU e naqueles que estavam a tomar imunossuppressores. Concordante com estes resultados, um estudo recente relatou que a FMT com recurso a vários doadores induz a remissão clínica na CU.<sup>99</sup> Porém, um outro estudo não conseguiu observar diferença significativa entre o tratamento com FMT e os doentes que foram transplantados com a sua própria microbiota.<sup>100</sup> Uma meta-análise recente, com a inclusão de 18 estudos, aponta para uma ligeira remissão na CU e boa remissão na DC, mas os protocolos dos estudos são muito heterogêneos pelo que é difícil retirar conclusões.<sup>101</sup>

Nesta terapêutica, torna-se necessário caracterizar com rigor o material alvo de transplantação, definir protocolos, a sua duração, a via de administração, o método de triagem dos doadores e dos recetores e avaliar os potenciais riscos desta terapêutica.

b. Probióticos e prebióticos

O uso de microrganismos com efeitos benéficos para a saúde está na base dos probióticos, dos quais se espera a remoção dos patogénios e a manutenção da função barreira do epitélio intestinal. Geralmente, os microrganismos utilizados incluem lactobacilos, bifidobactérias, *Saccharomyces boulardii* e a estirpe *E. coli* Nissle.

Os mecanismos de ação dos probióticos podem consistir na *i*) indução de respostas tolerogénicas, regulação da resposta contra patogénios e a inibição de autoimunidade, *ii*) produção de antimicrobianos, como por exemplo a produção de bacteriocinas pelos lactobacilos, *iii*) competição com os patogénios, como por exemplo o bloqueio da adesão ao epitélio intestinal, dificultando a colonização, *iv*) a inibição da produção de toxinas, inibição da sua ativação e remoção da toxina do organismo.<sup>102</sup> Embora haja alguma evidência da eficácia do tratamento com probióticos na CU, não há benefícios demonstrados na DC.

A mistura probiótica comercializada VSL #3, constituída por bactérias dos géneros *Bifidobacterium*, *Streptococcus* e *Lactobacillus*, obteve bons resultados. De facto, VSL #3 modifica a microbiota, reforça a função da barreira epitelial e modifica a produção de metabolitos bacterianos como a lactocepina, uma protease anti-inflamatória produzida por lactobacilos que diminui significativamente o recrutamento de linfócitos.<sup>103</sup>

Os prebióticos consistem em componentes alimentares que, por modulação da microbiota intestinal, favorecem a saúde do hospedeiro.<sup>102</sup> É necessário que as substâncias utilizadas como prebióticos não sejam digeríveis no trato gastrointestinal superior, mas sim pelas bactérias intestinais, originando um efeito benéfico ao estimular seletivamente o crescimento de determinados microrganismos. Os prebióticos podem ser obtidos a partir de cereais, fruta e vegetais ou podem ser produzidos artificialmente como a lactulose, mas os mais utilizados são a inulina e a oligofrutose, que favorecem o crescimento de bifidobactérias e *F. prausnitzii*.

Porém, são necessários mais estudos para avaliar a eficácia do uso de prebióticos no tratamento das DII e para desvendar o seu modo de ação, as interações com as várias estirpes bacterianas e a influência de fatores genéticos e ambientais. Atualmente os estudos são escassos e possuem *designs* muito heterogéneos.

### c. Nutrição exclusivamente entérica

A EEN é uma intervenção tão eficaz na indução de remissão na DC como a corticoterapia, induzindo remissão em cerca de 80 % dos doentes. Esta remissão é, no entanto, geralmente transitória, com frequentes recidivas um ano após a intervenção. Esta terapia envolve uma dieta com administração líquida de uma fórmula, por via oral ou nasogástrica, durante 4 a 12 semanas. O seu mecanismo de ação não é claro, mas sendo reconhecido o seu impacto na microbiota, é possível que o seu papel seja o de corrigir a disbiose. Alguns autores indicam que a EEN deve grande parte do seu efeito ao excluir da dieta os alimentos processados comuns à dieta ocidental, que por conterem na sua composição aditivos alimentares e hidratos de carbono complexos, como carboximetilcelulose, podem induzir lesões intestinais e inflamação.

No início da EEN há um aumento da disbiose, possivelmente perturbando a microbiota disbiótica para permitir uma posterior recolonização mais equilibrada e benéfica ao hospedeiro. Após a terapêutica, há diminuição da diversidade bacteriana. Os resultados dos vários estudos da EEN são controversos, mas em geral é observada uma diminuição em *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Prevotella* e *Proteobacteriaceae*, com um aumento de *Alistipes*. A diminuição em *Bacteroides-Prevotella* correlaciona-se com a melhoria clínica.<sup>104</sup>

Ao nível do metabolismo bacteriano, há também um grande impacto da EEN. A diversidade funcional diminui para níveis semelhantes aos dos controlos saudáveis, e verifica-se um aumento nos genes associados ao transporte de putrescina, com papel na regeneração da mucosa epitelial. Há também a diminuição da concentração de ácidos gordos livres, diminuição da concentração de butirato (provavelmente pela reduzida quantidade de fibra na EEN) e aumento do sulfureto e do pH fecal, o que pode indicar aumento do catabolismo proteico.

## Considerações Finais

Há vários estudos recentes que reportam a associação entre a disbiose e as DII, sendo conhecidos vários papéis da microbiota na inflamação. Algumas espécies têm um papel protetor, não só por limitarem o desenvolvimento de patobiontes ou a colonização por patogênicos (SFB, *S. typhimurium*, *E. faecalis*), mas também por regularem a resposta imune por via dos linfócitos Treg e a produção de IL-10, que estão envolvidos em respostas imunes de tolerância (Clostridia), e por produzirem metabólitos anti-inflamatórios (*Roseburia*, *Faecalibacterium prausnitzii*). Por outro lado, existem espécies que, embora comensais, possuem a capacidade de se tornarem patogênicas e agravarem a inflamação intestinal, através de vários mecanismos tais como a manipulação das defesas do hospedeiro para facilitar a sua colonização (*B. Fragilis*, MAP), produção de metabólitos lesivos para a mucosa (*Fusobacterium varium*), diminuição da função barreira do epitélio (*Ruminococcus gnavus*, *R. torques*), diminuição da autofagia (*Yersinia enterocolitica*) ou a *unfolded protein response* (*Brucella abortus*, *B. Melitensis*, *Listeria monocytogenes*).

Há numerosos fatores que influenciam a microbiota. Mais de duas centenas de *loci* de genes de risco foram associados às DII. Há também diversos fatores ambientais que afetam a composição e função da microbiota, tais como tabagismo e cessação tabágica (Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria), administração de vitamina D (*Alistipes*, *Barnesiella* e *Roseburia*) e as diferentes terapêuticas (antibióticos, anti-TNF, dieta).

Tendo em consideração as alterações na microbiota que se observam nas DII, é possível desenvolver métodos de diagnóstico e terapêuticas com base na correção da disbiose, promovendo a expansão de espécies benéficas e limitando as espécies prejudiciais. A nutrição exclusivamente entérica tem grande impacto na microbiota e é muito eficaz, embora seja necessária mais investigação para elucidar os mecanismos subjacentes. Os probióticos e prebióticos e a transplantação da microbiota fecal possuem potencial terapêutico, embora não se revelem tão eficazes, mas igualmente necessitam de mais estudos que elucidem a sua influência nas várias espécies bacterianas, e será necessário estabelecer protocolos harmonizados.

Em suma, a microbiota é muito complexa e muito variável entre indivíduos.

Atualmente, não há estudos que demonstrem indubitavelmente o papel da disbiose como causa ou consequência da inflamação, mas são reconhecidas muitas funções da microbiota na imunidade e na homeostasia intestinal, o que a tornam um atraente alvo terapêutico sobre o qual a investigação terá de incidir para clarificar o seu papel concreto na etiologia e na terapêutica das DII.



## Bibliografia

1. NG, Siew C.; SHI, Hai Yun; HAMIDI, Nima; UNDERWOOD, Fox E.; TANG, Whitney; BENCHIMOL, Eric I.; PANACCIONE, Remo; GHOSH, Subrata; WU, Justin C. Y.; CHAN, Francis K. L.; SUNG, Joseph J. Y.; KAPLAN, Gilaad G. - **Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies**. *The Lancet*. 390:10114 (2017) 2769–2778.
2. DIAS, Cláudia Camila; PORTELA, Francisco; FERNANDES, Samuel; MINISTRO, Paula; LAGO, Paula; ROSA, Isadora; CORREIA, Luis; MAGRO, Fernando - **The timing of early therapeutic strategies has a significant impact on Crohn's disease prognosis**. *Digestive and Liver Disease*. 50:5 (2018) 462–468.
3. ROSEN, Michael J.; DHAWAN, Ashish; SAEED, Shehzad A. - **Inflammatory bowel disease in children and adolescents**. *JAMA Pediatrics*. 169:11 (2015) 1053–1060.
4. HAAG, Lea-Maxie; SIEGMUND, Britta - **Intestinal Microbiota and the Innate Immune System – A Crosstalk in Crohn's Disease Pathogenesis**. *Frontiers in Immunology*. 6:2015) 489.
5. BECKER, Christoph; NEURATH, Markus F.; WIRTZ, Stefan - **The intestinal microbiota in inflammatory bowel disease**. *ILAR Journal*. 56:2 (2015) 192–204.
6. SARTOR, R. Balfour; WU, Gary D. - **Roles for Intestinal Bacteria, Viruses, and Fungi in Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases and Therapeutic Approaches**. *Gastroenterology*. 152:2 (2017) 327–339.e4.
7. FYDEREK, Krzysztof; STRUS, Magdalena; KOWALSKA-DUPLAGA, Kinga; GOSIEWSKI, Tomasz; WĘDRYCHOWICZ, Andrzej; JEDYNAK-WAŚOWICZ, Urszula; SŁADEK, Małgorzata; PIECZARKOWSKI, Stanisław; ADAMSKI, Paweł; KOCHAN, Piotr; HECZKO, Piotr B. - **Mucosal bacterial microflora and mucus layer thickness in adolescents with inflammatory bowel disease**. *World Journal of Gastroenterology*. 15:42 (2009) 5287–5294.
8. RIGOTTIER-GOIS, Lionel - **Dysbiosis in inflammatory bowel diseases: The oxygen hypothesis**. *ISME Journal*. 7:7 (2013) 1256–1261.
9. HENSON, Michael A.; PHALAK, Poonam - **Microbiota dysbiosis in inflammatory bowel diseases: In silico investigation of the oxygen hypothesis**. *BMC Systems Biology*. 11:1 (2017) 145.
10. PNG, Chin Wen; LINDÉN, Sara K.; GILSHENAN, Kristen S.; ZOETENDAL, Erwin G.; MCSWEENEY, Chris S.; SLY, Lindsay I.; MCGUCKIN, Michael A.; FLORIN, Timothy H. J. - **Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment in vitro utilization of mucin by other bacteria**. *American Journal of Gastroenterology*. 105:11 (2010) 2420–2428.
11. SCHÄFFLER, Holger; HERLEMANN, Daniel P. R. R.; ALBERTS, Christian; KASCHITZKI, Annika; BODAMMER, Peggy; BANNERT, Karen; KÖLLER, Thomas; WARNKE, Philipp; KREIKEMEYER, Bernd; LAMPRECHT, Georg - **Mucosa-attached bacterial community in Crohn's disease coheres with the clinical disease activity index**. *Environmental Microbiology Reports*. 8:5 (2016) 614–621.
12. LI, Qirong; WANG, Chenyang; TANG, Chun; HE, Qin; LI, Ning; LI, Jieshou - **Dysbiosis of gut fungal microbiota is associated with mucosal inflammation in crohn's disease**. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 48:6 (2014) 513–523.

13. SCHAUBECK, Monika; CLAVEL, Thomas; CALASAN, Jelena; LAGKOUVARDOS, Ilias; HAANGE, Sven Bastiaan; JEHLICH, Nico; BASIC, Marijana; DUPONT, Aline; HORNEF, Mathias; BERGEN, Martin VON; BLEICH, André; HALLER, Dirk - **Dysbiotic gut microbiota causes transmissible Crohn's disease-like ileitis independent of failure in antimicrobial defence.** *Gut.* 65:2 (2016) 225–37.
14. KAMADA, Nobuhiko; SEO, Sang Uk; CHEN, Grace Y.; NÚÑEZ, Gabriel - **Role of the gut microbiota in immunity and inflammatory disease.** *Nature Reviews Immunology.* 13:5 (2013) 321–335.
15. LIVERANI, Elisa; SCAIOLI, Eleonora; CARDAMONE, Carla; DAL MONTE, Paola; BELLUZZI, Andrea - **Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in the etiology of Crohn's disease, cause or epiphenomenon?** *World Journal of Gastroenterology.* 20:36 (2014) 13060–13070.
16. ELHENAWY, Wael; OBERC, Alexander; COOMBES, Brian K. - **A polymicrobial view of disease potential in Crohn's-associated adherent-invasive E. coli.** *Gut Microbes.* ISSN 19490984 (4 mar. 2017). 9:2 1–9. [Consultado a 1 ago. 2018]. Disponível na Internet: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/19490976.2017.1378291>.
17. MARTINEZ-MEDINA, Margarita; GARCIA-GIL, Librado Jesus - **Escherichia coli in chronic inflammatory bowel diseases: An update on adherent invasive Escherichia coli pathogenicity.** *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology.* 5:3 (2014) 213.
18. CHASSAING, Benoit; KOREN, Omry; CARVALHO, Frederic A.; LEY, Ruth E.; GEWIRTZ, Andrew T. - **AIEC pathobiont instigates chronic colitis in susceptible hosts by altering microbiota composition.** *Gut.* 63:7 (2014) 1069–1080.
19. CHASSAING, Benoit; GEWIRTZ, Andrew T. - **Mice harboring pathobiont-free microbiota do not develop intestinal inflammation that normally results from an innate immune deficiency.** *PLoS ONE.* 13:4 (2018) e0195310.
20. SHA, Sumei; XU, Bin; WANG, Xin; ZHANG, Yongguo; WANG, Honghong; KONG, Xiangyun; ZHU, Hongwu; WU, Kaichun - **The biodiversity and composition of the dominant fecal microbiota in patients with inflammatory bowel disease.** *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 75:3 (2013) 245–251.
21. MUKHOPADHYA, Indrani; THOMSON, John M.; HANSEN, Richard; BERRY, Susan H.; EL-OMAR, Emad M.; HOLD, Georgina L. - **Detection of Campylobacter concisus and other campylobacter species in colonic biopsies from adults with ulcerative colitis.** *PLoS ONE.* 6:6 (2011) e21490.
22. OHKUSA, T.; OKAYASU, I.; OGIHARA, T.; MORITA, K.; OGAWA, M.; SATO, N. - **Induction of experimental ulcerative colitis by Fusobacterium varium isolated from colonic mucosa of patients with ulcerative colitis.** *Gut.* 52:1 (2003) 79–83.
23. HUDA-FAUJAN, N.; ABDULAMIR, A. S.; FATIMAH, A. B.; ANAS, O. Muhammad; SHUHAIMI, M.; YAZID, A. M.; LOONG, Y. Y. - **The Impact of the Level of the Intestinal Short Chain Fatty Acids in Inflammatory Bowel Disease Patients Versus Healthy Subjects.** *The Open Biochemistry Journal.* 4:2010) 53–58.
24. MACHIELS, Kathleen; JOOSSENS, Marie; SABINO, João; PRETER, Vicky DE; ARIJS, Ingrid; EECKHAUT, Venessa; BALLEET, Vera; CLAES, Karolien; IMMERSEEL, Filip VAN; VERBEKE, Kristin; FERRANTE, Marc; VERHAEGEN, Jan; RUTGEERTS, Paul; VERMEIRE, Séverine - **A decrease of the butyrate-producing**

**species roseburia hominis and faecalibacterium prausnitzii defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis.** Gut. 63:8 (2014) 1275–1283.

25. MARTINEZ-MEDINA, Margarita; DENIZOT, Jérémy; DREUX, Nicolas; ROBIN, Frédéric; BILLARD, Elisabeth; BONNET, Richard; DARFEUILLE-MICHAUD, Arlette; BARNICH, Nicolas - **Western diet induces dysbiosis with increased E coli in CEABAC10 mice, alters host barrier function favouring AIEC colonisation.** Gut. 63:1 (2014) 116–24.

26. NI, Josephine; WU, Gary D.; ALBENBERG, Lindsey; TOMOV, Vesselin T. - **Gut microbiota and IBD: Causation or correlation?.** Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology. 14:10 (2017) 573–584.

27. YE, Byong Duk; MCGOVERN, Dermot P. B. - **Genetic variation in IBD: progress, clues to pathogenesis and possible clinical utility.** Expert Review of Clinical Immunology. 12:10 (2016) 1091–1107.

28. BIANCHERI, Paolo; POWELL, Nick; MONTELEONE, Giovanni; LORD, Graham; MACDONALD, Thomas T. - **The challenges of stratifying patients for trials in inflammatory bowel disease.** Trends in Immunology. 34:11 (2013) 564–571.

29. ZHANG, Yi-Zhen; LI, Yong-Yu - **Inflammatory bowel disease: pathogenesis.** World journal of gastroenterology. 20:1 (2014) 91–9.

30. JOOSSENS, Marie; HUYS, Geert; CNOCKAERT, Margo; PRETER, Vicky DE; VERBEKE, Kristin; RUTGEERTS, Paul; VANDAMME, Peter; VERMEIRE, Severine - **Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn’s disease and their unaffected relatives.** Gut. 60:5 (2011) 631–637.

31. BRUYN, Magali DE; VERMEIRE, Séverine - **NOD2 and bacterial recognition as therapeutic targets for Crohn’s disease.** Expert Opinion on Therapeutic Targets. 21:12 (2017) 1123–1139.

32. NABHANI, Ziad AL; MONTCUQUET, Nicolas; ROY, Maryline; DUSSAILLANT, Monique; HUGOT, Jean Pierre; BARREAU, Frédérick - **Complementary Roles of Nod2 in Hematopoietic and Nonhematopoietic Cells in Preventing Gut Barrier Dysfunction Dependent on MLCK Activity.** Inflammatory Bowel Diseases. 23:7 (2017) 1109–1119.

33. DROUET, Maryline; VIGNAL, Cécile; SINGER, Elisabeth; DJOUINA, Madjid; DUBREUIL, Luc; CORTOT, Antoine; DESREUMAUX, Pierre; NEUT, Christel - **AIEC colonization and pathogenicity: Influence of previous antibiotic treatment and preexisting inflammation.** Inflammatory Bowel Diseases. 18:10 (2012) 1923–1931.

34. WANG, Qianqian; MATSUO, Yusuke; PRADIPTA, Ambara R.; INOHARA, Naohiro; FUJIMOTO, Yukari; FUKASE, Koichi - **Synthesis of characteristic Mycobacterium peptidoglycan (PGN) fragments utilizing with chemoenzymatic preparation of meso-diaminopimelic acid (DAP), and their modulation of innate immune responses.** Organic and Biomolecular Chemistry. 14:3 (2016) 1013–1023.

35. SMITH, Judith A.; KHAN, Mike; MAGNANI, Diogo D.; HARMS, Jerome S.; DURWARD, Marina; RADHAKRISHNAN, Girish K.; LIU, Yi Ping; SPLITTER, Gary A. - **Brucella Induces an Unfolded Protein Response via TcpB That Supports Intracellular Replication in Macrophages.** PLoS Pathogens. 9:12 (2013) 1–12.

36. IMHANN, Floris; VICH VILA, Arnau; BONDER, Marc Jan; FU, Jingyuan; GEVERS, Dirk; VISSCHEDIJK, Marijn C.; SPEKHORST, Lieke M.; ALBERTS, Rudi; FRANKE, Lude; DULLEMEN, Hendrik M. VAN; STEEGE,

- Rinze W. F. TER; HUTTENHOWER, Curtis; DIJKSTRA, Gerard; ... WEERSMA, Rinse K. - **Interplay of host genetics and gut microbiota underlying the onset and clinical presentation of inflammatory bowel disease.** *Gut.* 67:1 (2018) 108–119.
37. PELASEYED, Thaher; BERGSTRÖM, Joakim H.; GUSTAFSSON, Jenny K.; ERMUND, Anna; BIRCHENOUGH, George M. H.; SCHÖTTE, Andrzej; POST, Sjoerd VAN DER; SVENSSON, Frida; RODRÍGUEZ-PIÑERO, Ana M.; NYSTRÖM, Elisabeth E. L.; WISING, Catharina; JOHANSSON, Malin E. V.; HANSSON, Gunnar C. - **The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system.** *Immunological Reviews.* 260:1 (2014) 8–20.
38. TADESSE, Selamawit; CORNER, Georgia; DHIMA, Elena; HOUSTON, Michele; GUHA, Chandan; AUGENLICHT, Leonard; VELCICH, Anna - **MUC2 mucin deficiency alters inflammatory and metabolic pathways in the mouse intestinal mucosa.** *Oncotarget.* 8:42 (2017) 71456–71470.
39. SHAN, Meimei; GENTILE, Maurizio; YEISER, John R.; WALLAND, A. Cooper; BORNSTEIN, Victor U.; CHEN, Kang; HE, Bing; CASSIS, Linda; BIGAS, Anna; COLS, Montserrat; COMERMA, Laura; HUANG, Bihui; BLANDER, J. Magarian; ... CERUTTI, Andrea - **Mucus enhances gut homeostasis and oral tolerance by delivering immunoregulatory signals.** *Science.* 342:6157 (2013) 447–453.
40. CHOVIYIYA, Raj; MEDZHITOV, Ruslan - **Stress, inflammation, and defense of homeostasis.** *Molecular Cell.* 54:2 (2014) 281–288.
41. ADOLPH, Timon E.; TOMCZAK, Michal F.; NIEDERREITER, Lukas; KO, Hyun-Jeong; BÖCK, Janne; MARTINEZ-NAVES, Eduardo; GLICKMAN, Jonathan N.; TSCHURTSCHENTHALER, Markus; HARTWIG, John; HOSOMI, Shuhei; FLAK, Magdalena B.; CUSICK, Jennifer L.; KOHNO, Kenji; ... BLUMBERG, Richard S. - **Paneth cells as a site of origin for intestinal inflammation.** *Nature.* 503:7475 (2013) 272–276.
42. MURTHY, Aditya; LI, Yun; PENG, Ivan; REICHEL, Mike; KATAKAM, Anand Kumar; NOUBADE, Rajkumar; ROOSE-GIRMA, Merone; DEVOSS, Jason; DIEHL, Lauri; GRAHAM, Robert R.; LOOKEREN CAMPAGNE, Menno VAN - **A Crohn's disease variant in Atg161l enhances its degradation by caspase 3.** *Nature.* 506:7489 (2014) 456–462.
43. BENJAMIN, Jamaal L.; SUMPTER, Rhea; LEVINE, Beth; HOOPER, Lora V. - **Intestinal epithelial autophagy is essential for host defense against invasive bacteria.** *Cell Host and Microbe.* 13:6 (2013) 723–734.
44. CHAUHAN, Santosh; MANDELL, Michael A.; DERETIC, Vojo - **Mechanism of action of the tuberculosis and Crohn disease risk factor IRGM in autophagy.** *Autophagy.* 12:2 (2016) 429–431.
45. HEDJOUJJE, Abdellah; CHEURFA, Chérifa; BRIQUEZ, Clément; ZHANG, Allen; KOCH, Stéphane; VUITTON, Lucine - **rs2476601 polymorphism in PTPN22 is associated with crohn's disease but not with ulcerative colitis: A meta-analysis of 16,838 cases and 13,356 controls.** *Annals of Gastroenterology.* 30:2 (2017) 197–208.
46. SPALINGER, Marianne R.; KASPER, Stephanie; GOTTIER, Claudia; LANG, Silvia; ATROTT, Kirstin; VAVRICKA, Stephan R.; SCHARL, Sylvie; GUTTE, Petrus M.; GRÜTTER, Markus G.; BEER, Hans Dietmar; CONTASSOT, Emmanuel; CHAN, Andrew C.; DAI, Xuezhai; ... SCHARL, Michael - **NLRP3 tyrosine phosphorylation is controlled by protein tyrosine phosphatase PTPN22.** *Journal of Clinical*

Investigation. 126:5 (2016) 1783–1800.

47. SHARP, Robert C.; ABDULRAHIM, Muna; NASER, Ebraheem S.; NASER, Saleh A. - **Genetic Variations of PTPN2 and PTPN22: Role in the Pathogenesis of Type I Diabetes and Crohn's Disease.** *Frontiers in cellular and infection microbiology.* 5:2015) 95.

48. YILMAZ, Bahtiyar; SPALINGER, Marianne R.; BIEDERMANN, Luc; FRANC, Yannick; FOURNIER, Nicolas; ROSSEL, Jean Benoit; JUILLERAT, Pascal; ROGLER, Gerhard; MACPHERSON, Andrew J.; SCHARL, Michael - **The presence of genetic risk variants within ptpn2 and ptpn22 is associated with intestinal microbiota alterations in swiss ibd cohort patients.** *PLoS ONE.* 13:7 (2018) e0199664.

49. SHARP, Robert C.; BEG, Shazia A.; NASER, Saleh A. - **Role of PTPN2/22 polymorphisms in pathophysiology of Crohn's disease.** *World Journal of Gastroenterology.* 24:6 (2018) 657–670.

50. SHEEHAN, Donal; MORAN, Carthage; SHANAHAN, Fergus - **The microbiota in inflammatory bowel disease.** *Journal of Gastroenterology.* 50:5 (2015) 495–507.

51. KENNELLY, Rory P.; SUBRAMANIAM, Thava; EGAN, Larry J.; JOYCE, Myles R. - **Smoking and Crohn's disease: Active modification of an independent risk factor (Education alone is not enough).** *Journal of Crohn's and Colitis.* 7:8 (2013) 631–635.

52. LUNNEY, P. C.; KARIYAWASAM, V. C.; WANG, R. R.; MIDDLETON, K. L.; HUANG, T.; SELINGER, C. P.; ANDREWS, J. M.; KATELARI, P. H.; LEONG, R. W. L. - **Smoking prevalence and its influence on disease course and surgery in Crohn's disease and ulcerative colitis.** *Alimentary Pharmacology and Therapeutics.* 42:1 (2015) 61–70.

53. DOECKE, James D.; SIMMS, Lisa A.; ZHAO, Zhen Zhen; ROBERTS, Rebecca L.; FOWLER, Elizabeth V.; CROFT, Anthony; LIN, Angela; HUANG, Ning; WHITEMAN, David C.; FLORIN, Timothy H. J.; BARCLAY, Murray L.; MERRIMAN, Tony R.; GEARRY, Richard B.; ... RADFORD-SMITH, Graham L. - **Smoking behaviour modifies IL23r-associated disease risk in patients with Crohn's disease.** *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 30:2 (2015) 299–307.

54. KUENZIG, M. Ellen; YIM, Jeff; COWARD, Stephanie; EKSTEEN, Bertus; SEOW, Cynthia H.; BARNABE, Cheryl; BARKEMA, Herman W.; SILVERBERG, Mark S.; LAKATOS, Peter L.; BECK, Paul L.; FEDORAK, Richard; DIELEMAN, Levinus A.; MADSEN, Karen; ... KAPLAN, Gilaad G. - **The NOD2-Smoking Interaction in Crohn's Disease is likely Specific to the I007 fs Mutation and may be Explained by Age at Diagnosis: A Meta-Analysis and Case-Only Study.** *EBioMedicine.* 21:2017) 188–196.

55. YADAV, Pankaj; ELLINGHAUS, David; RÉMY, Gaëlle; FREITAG-WOLF, Sandra; CESARO, Anabelle; DEGENHARDT, Frauke; BOUCHER, Gabrielle; DELACRE, Myriam; PEYRIN-BIROULET, Laurent; PICHAVANT, Muriel; RIOUX, John D.; GOSSET, Philippe; FRANKE, Andre; ... ANDERSEN, Vibeke - **Genetic Factors Interact With Tobacco Smoke to Modify Risk for Inflammatory Bowel Disease in Humans and Mice.** *Gastroenterology.* 153:2 (2017) 550–565.

56. BIEDERMANN, Luc; ZEITZ, Jonas; MWINYI, Jessica; SUTTER-MINDER, Eveline; REHMAN, Ateequr; OTT, Stephan J.; STEURER-STEY, Claudia; FREI, Anja; FREI, Pascal; SCHARL, Michael; LOESSNER, Martin J.; VAVRICKA, Stephan R.; FRIED, Michael; ... ROGLER, Gerhard - **Smoking Cessation Induces Profound Changes in the Composition of the Intestinal Microbiota in Humans.** *PLoS ONE.* 8:3 (2013) e59260.

57. WHITE, John H. - **Vitamin D deficiency and the pathogenesis of Crohn's disease.** *The Journal of*

Steroid Biochemistry and Molecular Biology. 175:2018) 23–28.

58. SCHÄFFLER, Holger; HERLEMANN, Daniel PR; KLINITZKE, Paul; BERLIN, Peggy; KREIKEMEYER, Bernd; JASTER, Robert; LAMPRECHT, Georg - **Vitamin D administration leads to a shift of the intestinal bacterial composition in Crohn's disease patients, but not in healthy controls.** Journal of Digestive Diseases. 19:4 (2018) 225–234.

59. WU, Gary D.; BUSHMAN, Frederic D.; LEWIS, James D. - **Diet, the human gut microbiota, and IBD.** Anaerobe. 24:2013) 117–120.

60. LEWIS, James D.; CHEN, Eric Z.; BALDASSANO, Robert N.; OTLEY, Anthony R.; GRIFFITHS, Anne M.; LEE, Dale; BITTINGER, Kyle; BAILEY, Aubrey; FRIEDMAN, Elliot S.; HOFFMANN, Christian; ALBENBERG, Lindsey; SINHA, Rohini; COMPHER, Charlene; ... BUSHMAN, Frederic D. - **Inflammation, Antibiotics, and Diet as Environmental Stressors of the Gut Microbiome in Pediatric Crohn's Disease.** Cell Host and Microbe. 18:4 (2015) 489–500.

61. SCHWERD, Tobias; FRIVOLT, Klara; CLAVEL, Thomas; LAGKOUVARDOS, Ilias; KATONA, Gabor; MAYR, Doris; UHLIG, Holm H.; HALLER, Dirk; KOLETZKO, Sibylle; BUFLER, Philip - **Exclusive enteral nutrition in active pediatric Crohn disease: Effects on intestinal microbiota and immune regulation.** J Allergy Clin Immunol. 138:2 (2016) 592–596.

62. ABEGUNDE, Ayokunle T.; MUHAMMAD, Bashir H.; BHATTI, Owais; ALI, Tauseef - **Environmental risk factors for inflammatory bowel diseases: Evidence based literature review.** World Journal of Gastroenterology. 22:27 (2016) 6296–6317.

63. LONG, Millie D.; KAPPELMAN, Michael D.; MARTIN, Christopher F.; CHEN, Wenli; ANTON, Kristen; SANDLER, Robert S. - **Role of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in exacerbations of inflammatory bowel disease.** Journal of Clinical Gastroenterology. 50:2 (2016) 152–156.

64. UNGARO, Ryan; BERNSTEIN, Charles N.; GEARRY, Richard; HVIID, Anders; KOLHO, Kaija Leena; KRONMAN, Matthew P.; SHAW, Souradet; KRUIINGEN, Herbert VAN; COLOMBEL, Jean Frédéric; ATREJA, Ashish - **Antibiotics associated with increased risk of New-Onset Crohn's disease but not ulcerative colitis: A meta-analysis.** American Journal of Gastroenterology. 109:11 (2014) 1728–1738.

65. KHAN, Khurram J.; ULLMAN, Thomas A.; FORD, Alexander C.; ABREU, Maria T.; ABADIR, A.; MARSHALL, John K.; TALLEY, Nicholas J.; MOAYYEDI, Paul - **Antibiotic therapy in inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis.** American Journal of Gastroenterology. 106:4 (2011) 661–673.

66. TERAU, Shuichi; YAMASHIRO, Kenzo; TAMURA, Isamu; HIRANO, Takahiro; OHKUSA, Toshifumi; KATO, Kimitoshi - **Antibiotic combination therapy for steroid Withdrawal in steroid-dependent ulcerative colitis.** Em Digestion [Consultado a 3 ago. 2018]. Disponível na Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21266816>>. ISBN 0012-2823

67. TURNER, Dan; LEVINE, Arie; KOLHO, Kaija Leena; SHAOUL, Ron; LEDDER, Oren - **Combination of oral antibiotics may be effective in severe pediatric ulcerative colitis: A preliminary report.** Journal of Crohn's and Colitis. 8:11 (2014) 1464–1470.

68. LEONG, Rupert W.; MITREV, Nikola; KO, Yanna - **Hygiene Hypothesis: Is the Evidence the Same All over the World?.** Em Digestive Diseases [Consultado a 17 ago. 2018]. Disponível na Internet:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26982573>.

69. BERNSTEIN, Charles N. - **Psychological Stress and Depression: Risk Factors for IBD?**. Em *Digestive Diseases* [Consultado a 4 ago. 2018]. Disponível na Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26983009>.
70. GOSWAMI, Pooja; DAS, Prasenjit; VERMA, Anil K.; PRAKASH, Shyam; DAS, T. K.; NAG, T. C.; AHUJA, Vineet; GUPTA, Siddhartha Datta; MAKHARIA, Govind K. - **Are alterations of tight junctions at molecular and ultrastructural level different in duodenal biopsies of patients with celiac disease and Crohn's disease?** *Virchows Archiv.* 465:5 (2014) 521–530.
71. NIGHOT, Prashant K.; HU, Chien-An Andy; MA, Thomas Y. - **Autophagy enhancement of intestinal epithelial tight junction barrier function by targeting claudin-2 degradation.** *The Journal of biological chemistry.* 290:11 (2015) jbc.M114.597492-13.
72. JAKOBSSON, Hedvig E.; RODRIGUEZ-PINEIRO, A. M.; SCHUTTE, A.; ERMUND, Anna; BOYSEN, Preben; BEMARK, Mats; SOMMER, Felix; BACKHED, F.; HANSSON, Gunnar C.; JOHANSSON, M. E. - **The composition of the gut microbiota shapes the colon mucus barrier.** *EMBO reports.* 16:2 (2015) 164–177.
73. SALZMAN, Nita H. - **Paneth cell defensins and the regulation of the microbiome détente at mucosal surfaces.** *Gut Microbes.* 1:6 (2010) 401–6.
74. RUTELLA, Sergio; LOCATELLI, Franco - **Intestinal dendritic cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease.** *World Journal of Gastroenterology.* 17:33 (2011) 3761–3775.
75. ALROQI, Fayhan J.; CHATILA, Talal A. - **T Regulatory Cell Biology in Health and Disease.** *Current Allergy and Asthma Reports.* 16:4 (2016) 1–8.
76. UENO, Aito; GHOSH, Abhisek; HUNG, Daniel; LI, Ji; JIJON, Humberto - **Th17 plasticity and its changes associated with inflammatory bowel disease.** *World Journal of Gastroenterology.* 21:43 (2015) 12283–12295.
77. OMENETTI, Sara; PIZARRO, Theresa T. - **The Treg/Th17 axis: A dynamic balance regulated by the gut microbiome.** *Frontiers in Immunology.* 6:DEC (2015) 639.
78. ATARASHI, Koji; TANOUE, Takeshi; OSHIMA, Kenshiro; SUDA, Wataru; NAGANO, Yuji; NISHIKAWA, Hiroyoshi; FUKUDA, Shinji; SAITO, Takuro; NARUSHIMA, Seiko; HASE, Koji; KIM, Sangwan; FRITZ, Joëlle V.; WILMES, Paul; ... HONDA, Kenya - **Treginduction by a rationally selected mixture of Clostridia strains from the human microbiota.** *Nature.* 500:7461 (2013) 232–236.
79. HOSHI, Namiko; SCHENTEN, Dominik; NISH, Simone A.; WALTHER, Zenta; GAGLIANI, Nicola; FLAVELL, Richard A.; REIZIS, Boris; SHEN, Zeli; FOX, James G.; IWASAKI, Akiko; MEDZHITOV, Ruslan - **MyD88 signalling in colonic mononuclear phagocytes drives colitis in IL-10-deficient mice.** *Nature Communications.* 3:2012) 1120.
80. ARTIS, David; SPITS, Hergen - **The biology of innate lymphoid cells.** *Nature.* 517:7534 (2015) 293–301.
81. SONNENBERG, Gregory F.; MONTICELLI, Laurel A.; ALENGHAT, Theresa; FUNG, Thomas C.; HUTNICK, Natalie A.; KUNISAWA, Jun; SHIBATA, Naoko; GRUNBERG, Stephanie; SINHA, Rohini; ZAHM,

- Adam M.; TARDIF, Mélanie R.; SATHALIYAWALA, Taheri; KUBOTA, Masaru; ... ARTIS, David - **Innate lymphoid cells promote anatomical containment of lymphoid-resident commensal bacteria**. *Science*. 336:6086 (2012) 1321–1325.
82. SONNENBERG, Gregory F.; ARTIS, David - **Innate lymphoid cells in the initiation, regulation and resolution of inflammation**. *Nature Medicine*. 21:7 (2015) 698–708.
83. MORTHA, Arthur; CHUDNOVSKIY, Aleksey; HASHIMOTO, Daigo; BOGUNOVIC, Milena; SPENCER, Sean P.; BELKAID, Yasmine; MERAD, Miriam - **Microbiota-dependent crosstalk between macrophages and ILC3 promotes intestinal homeostasis**. *Science*. 343:6178 (2014) 1249288.
84. PHILIP, Naomi H.; ARTIS, David - **New friendships and old feuds: Relationships between innate lymphoid cells and microbial communities**. *Immunology and Cell Biology*. 91:3 (2013) 225–231.
85. MORO, Kazuyo; KOYASU, Shigeo - **Innate lymphoid cells, possible interaction with microbiota**. *Seminars in Immunopathology*. 37:1 (2015) 27–37.
86. POWELL, Nick; WALKER, Alan W.; STOLARCZYK, Emilie; CANAVAN, James B.; GÖKMEN, M. Refik; MARKS, Ellen; JACKSON, Ian; HASHIM, Ahmed; CURTIS, Michael A.; JENNER, Richard G.; HOWARD, Jane K.; PARKHILL, Julian; MACDONALD, Thomas T.; LORD, Graham M. - **The Transcription Factor T-bet Regulates Intestinal Inflammation Mediated by Interleukin-7 Receptor+Innate Lymphoid Cells**. *Immunity*. 37:4 (2012) 674–684.
87. MORGAN, Xochitl C.; TICKLE, Timothy L.; SOKOL, Harry; GEVERS, Dirk; DEVANEY, Kathryn L.; WARD, Doyle V; REYES, Joshua A.; SHAH, Samir A.; LELEIKO, Neal; SNAPPER, Scott B.; BOUSVAROS, Athos; KORZENIK, Joshua; SANDS, Bruce E.; ... HUTTENHOWER, Curtis - **Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment**. *Genome Biology*. 13:9 (2012) R79.
88. KUWAHARA, Tomomi; OGURA, Yositoshi; OSHIMA, Kenshiro; KUOKAWA, Ken; OOKA, Tadasuke; HIRAKAWA, Hideki; ITOH, Takehiko; NAKAYAMA-IMAOHJI, Haruyuki; ICHIMURA, Minoru; ITOH, Kikuji; ISHIFUNE, Chieko; MAEKAWA, Yoichi; YASUTOMO, Koji; ... HAYASHI, Tetsuya - **The lifestyle of the segmented filamentous bacterium: A non-culturable gut-associated immunostimulating microbe inferred by whole-genome sequencing**. *DNA Research*. 18:4 (2011) 291–303.
89. FINOTTI, Alessia; GASPARELLO, Jessica; LAMPONENTI, Ilaria; COSENZA, Lucia Carmela; MACONI, Giovanni; MATARESE, Vincenzo; GENTILI, Valentina; LUCA, Dario DI; GAMBARI, Roberto; CASELLI, Michele - **PCR detection of segmented filamentous bacteria in the terminal ileum of patients with ulcerative colitis**. *BMJ Open Gastroenterology*. 4:1 (2017) e000172.
90. OGILVIE, Lesley A.; JONES, Brian V - **Dysbiosis modulates capacity for bile acid modification in the gut microbiomes of patients with inflammatory bowel disease: A mechanism and marker of disease?**. *Gut*. 61:11 (2012) 1642–1643.
91. NAGAO-KITAMOTO, Hiroko; SHREINER, Andrew B.; GILLILLAND, Merritt G.; KITAMOTO, Sho; ISHII, Chiharu; HIRAYAMA, Akiyoshi; KUFFA, Peter; EL-ZAATARI, Mohamad; GRASBERGER, Helmut; SEEKATZ, Anna M.; HIGGINS, Peter D. R.; YOUNG, Vincent B.; FUKUDA, Shinji; ... KAMADA, Nobuhiko - **Functional Characterization of Inflammatory Bowel Disease-Associated Gut Dysbiosis in Gnotobiotic Mice**. *CMGH*. 2:4 (2016) 468–481.
92. SMITH, Patrick M.; HOWITT, Michael R.; PANIKOV, Nicolai; MICHAUD, Monia; GALLINI, Carey Ann;



- BOHLOOLY-Y, Mohammad; GLICKMAN, Jonathan N.; GARRETT, Wendy S. - **The Microbial Metabolites, Short-Chain Fatty Acids, Regulate Colonic Treg Cell Homeostasis.** *Science*. 341:6145 (2013) 569–573.
93. GAO, Jing; XU, Kang; LIU, Hongnan; LIU, Gang; BAI, Miaomiao; PENG, Can; LI, Tiejun; YIN, Yulong - **Impact of the Gut Microbiota on Intestinal Immunity Mediated by Tryptophan Metabolism.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 8:2018) 13.
94. CASÉN, C.; VEBØ, H. C.; SEKELJA, M.; HEGGE, F. T.; KARLSSON, M. K.; CIEMNIEJEWSKA, E.; DZANKOVIC, S.; FRØYLAND, C.; NESTESTOG, R.; ENGSTRAND, L.; MUNKHOLM, P.; NIELSEN, O. H.; ROGLER, G.; ... RUDI, K. - **Deviations in human gut microbiota: A novel diagnostic test for determining dysbiosis in patients with IBS or IBD.** *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 42:1 (2015) 71–83.
95. GEVERS, Dirk; KUGATHASAN, Subra; DENSON, Lee A.; VÁZQUEZ-BAEZA, Yoshiki; TREUREN, Will VAN; REN, Boyu; SCHWAGER, Emma; KNIGHTS, Dan; SONG, Se Jin; YASSOUR, Moran; MORGAN, Xochitl C.; KOSTIC, Aleksandar D.; LUO, Chengwei; ... XAVIER, Ramnik J. - **The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn’s disease.** *Cell Host and Microbe*. 15:3 (2014) 382–392.
96. DUBINSKY, Marla; BRAUN, Jonathan - **Diagnostic and Prognostic Microbial Biomarkers in Inflammatory Bowel Diseases.** *Gastroenterology*. 149:5 (2015) 1265–1274.
97. KELLY, Colleen R.; KAHN, Stacy; KASHYAP, Purna; LAINE, Loren; RUBIN, David; ATREJA, Ashish; MOORE, Thomas; WU, Gary - **Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook.** *Gastroenterology*. 149:1 (2015) 223–237.
98. MOAYYEDI, Paul; SURETTE, Michael G.; KIM, Peter T.; LIBERTUCCI, Josie; WOLFE, Melanie; ONISCHI, Catherine; ARMSTRONG, David; MARSHALL, John K.; KASSAM, Zain; REINISCH, Walter; LEE, Christine H. - **Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial.** *Gastroenterology*. 149:1 (2015) 102–109.
99. PARAMSOTHY, Sudarshan; KAMM, Michael A.; KAAKOUSH, Nadeem O.; WALSH, Alissa J.; BOGAERDE, Johan VAN DEN; SAMUEL, Douglas; LEONG, Rupert W. L.; CONNOR, Susan; NG, Watson; PARAMSOTHY, Ramesh; XUAN, Wei; LIN, Enmoore; MITCHELL, Hazel M.; BORODY, Thomas J. - **Multidonor intensive faecal microbiota transplantation for active ulcerative colitis: a randomised placebo-controlled trial.** *The Lancet*. 389:10075 (2017) 1218–1228.
100. ROSSEN, Noortje G.; FUENTES, Susana; SPEK, Mirjam J. VAN DER; TIJSSEN, Jan G.; HARTMAN, Jorn H. A.; DUFLOU, Ann; LÖWENBERG, Mark; BRINK, Gijs R. VAN DEN; MATHUS-VLIEGEN, Elisabeth M. H.; VOS, Willem M. DE; ZOETENDAL, Erwin G.; D’HAENS, Geert R.; PONSIOEN, Cyriel Y. - **Findings From a Randomized Controlled Trial of Fecal Transplantation for Patients With Ulcerative Colitis.** *Gastroenterology*. 149:1 (2015) 110–118.
101. COLMAN, Ruben J.; RUBIN, David T. - **Fecal microbiota transplantation as therapy for inflammatory bowel disease: A systematic review and meta-analysis.** *Journal of Crohn’s and Colitis*. 8:12 (2014) 1569–1581.
102. MARKOWIAK, Paulina; ŚLIŻEWSKA, Katarzyna - **Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health.** *Nutrients*. 9:9 (2017) 1021.

103. KRISHNAN, Moorthy; PENROSE, Harrison M.; SHAH, Nilay N.; MARCHELLETTA, Ronald R.; MCCOLE, Declan F. - **VSL#3 probiotic stimulates T-cell protein tyrosine phosphatase-mediated recovery of IFN- $\gamma$ -induced intestinal epithelial barrier defects.** *Inflammatory Bowel Diseases*. 22:12 (2016) 2811–2823.

104. MACLELLAN, Amber; CONNORS, Jessica; GRANT, Shannan; CAHILL, Leah; LANGILLE, Morgan G. I.; LIMBERGEN, Johan VAN - **The impact of exclusive enteral nutrition (EEN) on the gut microbiome in Crohn's disease: A review.** *Nutrients*. 9:5 (2017) 0447.