



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Ana Margarida Ferreira Henriques

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Potencial do Microbioma Intestinal Humano nas Estratégias de Tratamento” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Isabel Belchior, da Dra. Marina Santos, da Dra. Magda Russo e da Professora Doutora Teresa Carmo Pimenta Dinis Silva e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Outubro de 2020



UNIVERSIDADE D COIMBRA

Ana Margarida Ferreira Henriques

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Potencial do Microbioma Intestinal Humano nas Estratégias de Tratamento” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Isabel Belchior, da Dra. Marina Santos, da Dra. Magda Russo e da Professora Doutora Teresa Carmo Pimenta Dinis Silva e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Outubro de 2020

Eu, Ana Margarida Ferreira Henriques, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º. 2015225000, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Potencial do Microbioma Intestinal Humano nas Estratégias de Tratamento” 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, 30 de outubro de 2020.

Ana Margarida Ferreira Henriques

(Ana Margarida Ferreira Henriques)

*“O futuro pertence àqueles
que acreditam na beleza dos seus sonhos.”*

Eleanor Roosevelt

Agradecimentos

Este trabalho simboliza a reta final de 5 anos de estudo, repletos de crescimento intelectual e pessoal, de partilhas e vivências inesquecíveis, que não teriam sido possíveis sem o apoio incondicional de algumas pessoas, às quais expresso o meu profundo agradecimento.

Aos meus pais, Margarida e Zé, por sempre me incentivarem e acompanharem em cada passo, por “não me darem o peixe, mas me ensinarem a pescar” e, sobretudo, por me transmitirem o valor de que, independentemente das nossas raízes, o sucesso está ao alcance de todos. Obrigada por tudo o que fazem por mim!

À Cátia, a minha pequena grande irmã, por ser o meu pilar e por estar sempre presente nos momentos importantes da minha vida.

Aos meus avós, aos presentes e aos já ausentes, por todo o apoio, dedicação e carinho. O sonho de me verem formada está prestes a tornar-se realidade!

Ao Diogo, o irmão mais velho que não tive, por me encaminhar, por me fazer sempre acreditar de que sou capaz e de me mostrar que apenas o céu é o limite.

À família RAJA, por ter sido a minha família em Coimbra, por me confortarem e me fazerem sentir em casa todos os dias. Continuem a acolher cada novo elemento como eu fui acolhida e vos ensinei a acolher, demonstrem-lhes o quão especial é estar incluída num grupo como o nosso, de apoio, união e amor.

Aos amigos do Bem-du-ron, cada um especial à sua maneira, por me ensinarem o verdadeiro significado da combinação de dedicação, diversão e trabalho. É bonito vencer junto das 29 grandes amigas deste percurso!

A todos os restantes amigos, por tornarem estes verdes anos ainda mais extraordinários, por partilharem um bocadinho de vocês comigo, ajudando-me a ser uma pessoa cada vez melhor.

À Dra. Carla Silva, à Dra. Marina Santos, à Dra. Isabel Belchior e à restante equipa da Farmácia Correia de Oliveira e Farmácia Silcar, por todos os conhecimentos transmitidos e amizades feitas. Obrigada por me terem integrado tão bem na equipa.

À Dra. Magda Russo, à Joana e ao Daniel, pelo exemplo de profissionalismo e pela excelente forma como me acolheram, assim como por toda a confiança depositada.

À Professora Doutora Teresa Dinis, por toda a disponibilidade demonstrada, pelos conselhos e ensinamentos partilhados essenciais na realização da presente monografia.

Por último, mas não menos importante, a ti Coimbra, cidade estudante que ansiei pisar. És eterno sinónimo da palavra saudade. Em ti soltei a mais feliz gargalhada e a lágrima mais sentida também. Recebeste-me de braços abertos, mostraste-me o sol diferente, o fado que arrepia e deste-me amizades de uma vida. A ti, agradeço a mulher que me tornaste. De ti, serei embaixadora em qualquer destino que a vida me reserve.

Este trabalho é dedicado a todos vocês.

Obrigada!

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas	10
Introdução	11
I. Análise SWOT	12
I.1. Pontos Fortes (<i>Strengths</i>)	12
I.1.1. Dispensa de Medicamentos Hospitalares: COVID-19	12
I.1.2. Programa Ezfy.....	13
I.1.3. Metodologia <i>Kaizen</i>	14
I.1.4. Serviços Farmacêuticos.....	15
I.1.5. Dinamismo na Farmácia	16
I.2. Pontos Fracos (<i>Weaknesses</i>)	16
I.2.1. <i>Stocks</i> Reduzidos.....	16
I.2.2. Insegurança em Determinadas Áreas de Aconselhamento	17
I.3. Oportunidades (<i>Opportunities</i>)	17
I.3.1. Sifarma 2020®	17
I.3.2. Formação Complementar Contínua	18
I.3.3. Cartão Saúde	18
I.4. Ameaças (<i>Threats</i>).....	19
I.4.1. Medicamentos Esgotados	19
I.4.2. Pandemia COVID-19	19
Conclusão	20
Referências Bibliográficas	21
Anexos	22

Parte II – Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Lista de Abreviaturas	24
Introdução	25
I. Análise SWOT	26
I.1. Pontos Fortes (<i>Strengths</i>)	26
I.1.1. Produção de Medicamentos em Investigação e Desenvolvimento	26
I.1.2. Diversidade de Tarefas e Autonomia ao Longo do Estágio.....	27
I.1.3. Aplicação dos Conhecimentos Adquiridos ao longo do MICF.....	27
I.1.4. Gestão de Tempo	28
I.2. Pontos Fracos (<i>Weaknesses</i>)	28
I.2.1. Falta de Contacto com Outros Departamentos.....	28
I.2.2. Duração do Período de Estágio	28
I.3. Oportunidades (<i>Opportunities</i>)	29
I.3.1. Importância da Realização do Estágio em Indústria Farmacêutica	29
I.3.2. Contacto com Diversos Equipamentos Industriais.....	29
I.4. Ameaças (<i>Threats</i>).....	29
I.4.1. O Custo da Produção	29

Conclusão	30
Referências Bibliográficas	30

Parte III – Monografia "Potencial do Microbioma Intestinal Humano nas Estratégias de Tratamento"

Resumo	33
Abstract.....	34
Lista de Abreviaturas	35
Lista de Figuras.....	36
Introdução	37
1. O Microbioma Intestinal Humano	39
1.1. Microbioma Intestinal nos Primeiros Anos de Vida.....	40
1.2. Funções da Microbiota Intestinal.....	40
2. A Microbiota Intestinal na Doença e Saúde Humana	43
2.1. O Intestino e a Doença.....	44
3. Alterações da Microbiota Intestinal e Estados de Doença	47
3.1. Doenças Inflamatórias Intestinais.....	47
3.2. Depressão e Interconexão Microbioma-Intestino-Cérebro.....	50
3.2.1. O Nervo Vago	51
3.2.2. Via Neuroendócrina	52
3.2.3. Barreira Intestinal e Barreira Hematoencefálica.....	53
3.3. Cancro Colo-Retal	54
3.3.1. Influência do Microbioma Intestinal Humano no Tratamento do Cancro Colo-Retal.....	55
3.3.1.1. Quimioterapia.....	55
3.3.1.1.1. Inibidores da Topoisomerase	55
3.3.1.1.2. Agentes Alquilantes.....	56
3.3.1.1.3. Compostos à Base de Platina.....	56
3.3.1.2. Radioterapia	57
3.3.1.3. Imunoterapia	58
4. Manipulação da Microbiota Intestinal Humana como Estratégia Terapêutica	59
4.1. Prebióticos e Probióticos.....	59
4.2. Posbióticos	60
4.3. Dieta	61
4.4. Transplante da Microbiota Fecal	62
Conclusão e Perspetivas Futuras.....	63
Referências Bibliográficas	64

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Silcar

&

Farmácia Correia de Oliveira

Lista de Abreviaturas

AMI – Assistência Médica Internacional

COVID-19 – Doença do Coronavírus 2019 (do inglês: *Coronavirus Disease 2019*)

DGS – Direção Geral de Saúde

EC – Estágio Curricular

FCO – Farmácia Correia de Oliveira

FS – Farmácia Silcar

IMC – Índice de Massa Corporal

LAF – Linha de Apoio ao Farmacêutico

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

PTS – Programa de Troca de Seringas

SIGREM – Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e Medicamentos

SMPMS, EPE – Serviços Partilhados do Ministério da Saúde

SWOT – *Strengths, Weakness, Opportunities and Threats*

VALORMED – Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos

VIH – Vírus de Imunodeficiência Humana

Introdução

A última etapa do plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra concede aos estudantes a oportunidade de realizarem um Estágio Curricular (EC) na área da Farmácia Comunitária, com o objetivo de consolidarem e aplicarem os conhecimentos científicos adquiridos ao longo do seu percurso académico.

A área da Farmácia Comunitária assume-se como uma das áreas mais desafiantes do saber farmacêutico e de maior contacto com a população. Atualmente, o utente é cada vez mais detentor de informação, embora muitas das vezes não fundamentada, o que o torna cada vez mais exigente relativamente ao atendimento que lhe é prestado. Para além disso, o farmacêutico tem hoje a responsabilidade acrescida da adaptabilidade a um contexto científico dinâmico que obriga a uma constante atualização do seu conhecimento. Estes e outros fatores tornam imperativo que o farmacêutico seja encarado pela sociedade como imprescindível, por ser dotado de todo este conhecimento e pela proximidade à população num serviço imediato e de confiança, não sendo equiparável a outra profissão do setor da saúde.

O presente relatório tem como objetivo abordar as atividades desenvolvidas e as competências adquiridas, que considero de maior destaque para o meu futuro profissional, no decorrer do meu estágio em Farmácia Comunitária, realizado na Farmácia Silcar e na Farmácia Correia de Oliveira, com início a 6 de janeiro de 2020 e término a 11 julho de 2020, sob orientação da Dra. Isabel Belchior e da Dra. Marina Santos, respetivamente.

I. Análise SWOT

Após a conclusão do estágio curricular na Farmácia Silcar (FS) e na Farmácia Correia de Oliveira (FCO), a avaliação e balanço deste é apresentada segundo uma análise SWOT (Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças – traduzido do inglês de *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*). Criada nos anos 60 por Albert Humphrey, esta é uma ferramenta de análise simples, mas concisa, que visa avaliar e identificar fatores que influenciem o funcionamento de uma organização em que é aplicada. Contudo, esta análise é também usada para fins individuais. Pode dividir-se numa componente interna – Pontos Fortes e Pontos Fracos – e numa componente externa – Oportunidades e Ameaças. As primeiras são direcionadas ao assunto em análise, já as segundas são inerentes ao meio envolvente.

Assim, este tipo de análise tem como objetivo servir de ferramenta para a otimização contínua das atividades abordadas que, neste contexto, correspondem ao estágio curricular e aos conhecimentos adquiridos neste.

I.1. Pontos Fortes (*Strengths*)

I.1.1. Dispensa de Medicamentos Hospitalares: COVID-19

O facto de grande parte do meu estágio curricular ter sido realizado em tempos de uma pandemia mundial – COVID-19 (Doença do Coronavírus 2019) – onde a realidade do nosso quotidiano teve de ser adaptada a este novo coronavírus, levou a que a determinado tipo de serviços fossem implementados nas farmácias comunitárias, de forma a assegurar a continuidade do acesso à medicação à população e ao mesmo tempo um menor risco de contágio e exposição ao vírus.

A dispensa de medicamentos hospitalares passou a ser feita excecionalmente nas farmácias, com o objetivo de evitar a deslocação dos doentes aos locais com maior risco de exposição ao vírus - os Hospitais. Desta forma, sem qualquer lucro ou custo para a farmácia, foi implementada uma rede de dispensa deste tipo de medicamentos, cedidos apenas em ambiente hospitalar, em condições normais. Este processo inicia-se com o contacto com o doente por parte do Hospital, onde este elege a farmácia para o levantamento da medicação. Após este primeiro passo, o Hospital contacta a Linha de Apoio ao Farmacêutico (LAF), criada para esta situação de pandemia, cedendo os dados recolhidos e esta, por sua vez, informa a farmácia eleita de quais os doentes que se irão dirigir a esta para levantar os seus

medicamentos hospitalares. Estes medicamentos chegam à farmácia através das distribuidoras farmacêuticas e, posteriormente, o Farmacêutico informa o doente da sua disponibilidade de levantamento.

A implementação, embora que provisória, deste tipo de serviço nas farmácias, permitiu-me a familiarização com os diversos medicamentos dispensados apenas em Hospitais, com as suas posologias e adaptações feitas a cada doente, proporcionando o alargamento dos meus conhecimentos na área da Farmácia Hospitalar, com a qual não tive oportunidade de contactar, até ao momento.

1.1.2. Programa Ezfy

A Farmácia Correia de Oliveira faz parte das 80 farmácias aderentes ao programa Ezfy. Esta iniciativa visa desenvolver programas que promovam a segurança e a efetividade das terapêuticas farmacológicas seguidas pelos utentes da farmácia, através de um acompanhamento mais próximo e frequente, quer ao balcão, quer por contacto telefónico¹.

Aquando da realização do meu estágio curricular, a FCO tinha implementada a intervenção de Primeira Dispensa. O foco eram os utentes que iniciavam a toma de um medicamento pela primeira vez. Quando, diariamente, durante o meu atendimento ao balcão me deparava com este tipo de casos, questionava ao utente qual o motivo do início da toma ou troca para um novo medicamento, entre outras questões, de forma a obter um bom enquadramento da situação e conseguir transmitir o máximo de informação e esclarecimentos sobre a nova terapêutica. De seguida, solicitava o seu consentimento para um acompanhamento mais próximo e frequente, que passaria por um contacto telefónico quinzenal, na impossibilidade de este se dirigir à farmácia durante esse período de tempo. Durante o primeiro, segundo e terceiro contacto, eram colocadas questões-chave (como, por exemplo, “Está a ter algum problema com o medicamento e/ou preocupações sobre como tomá-lo?”, “Como se está a sentir? O resultado da toma é diferente do que estava à espera?”, “Algo mais a saber sobre o novo medicamento ou há alguma informação que gostaria que reforçasse?”), orientadas pelo programa de Primeira Dispensa, cujas respostas tinham de ser registadas na plataforma *online* da Ezfy, para um melhor tratamento da informação, posteriormente. O ciclo de seguimento terminava passado três contactos sem registo de insucesso da nova terapêutica. No momento em que fosse registado algum efeito inesperado, era aconselhado o contacto com o médico para averiguar a suspensão da nova terapêutica, encerrando também o ciclo de seguimento.

Ao longo do estágio na FCO, foi-me dada a autonomia para realizar o acompanhamento dos vários utentes inseridos no programa de Primeira Dispensa. Esta iniciativa, ajudou-me a melhorar a abordagem do utente e a enriquecer o meu aconselhamento sobre os diversos medicamentos.

1.1.3. Metodologia Kaizen

Ambas as farmácias se regem segundo a metodologia *Kaizen*, na sua organização, sendo uma filosofia cujo foco é a mudança (“*Kai*”) para melhor (“*Zen*”), onde esta mudança e melhoria contínua envolve toda a equipa, todos espaços, todos dias, neste caso, na farmácia. Apenas deste modo se consegue “mudar para melhor” – *Kaizen*². Esta metodologia pode ser observada nos espaços da farmácia e em diversos processos, como a receção e arrumação de encomendas e no atendimento e aconselhamento ao balcão.

Após a receção das encomendas no sistema informático, o passo seguinte passa pela arrumação consoante a forma farmacêutica dos diversos produtos, existindo espaços destinados a pomadas e cremes, a colírios, a produtos de administração retal, a produtos de administração oral, a loções, a pós e granulados, a ampolas e ainda a injetáveis. Os medicamentos com maior rotação na farmácia – designados de *cockpits* – tinham um local de arrumação específico, junto dos balcões de atendimento, de forma a que existisse uma rápida acessibilidade a estes, ao mesmo tempo em que se aumentava a eficiência no processo de atendimento. Assim, ao ser evitada a necessidade de deslocação ao *back-office* da farmácia, quando se tratava de uma venda deste tipo de medicamentos, a qualidade do serviço prestado melhorava significativamente, uma vez que não existiam quebras durante o atendimento ao utente.

A existência de um espaço no *back-office* em que se encontravam afixados os objetivos, lemas da equipa, listagens dos prazos de validade próximos e dos produtos com elevado *stock* mas baixa rotação (designados de monos), pontos de situação das tarefas a cargo de cada um e dos problemas entretanto surgidos e em vias de serem solucionados permitiram-me uma rápida e melhor integração no modo de trabalho da equipa de ambas as farmácias.

A metodologia *Kaizen* foi deveras relevante na minha familiarização com a organização dos espaços e funcionamento da FS e FCO, assim como nos processos de atendimento e aconselhamento, uma vez que permitiram que desempenhasse com maior eficiência e autonomia o meu trabalho diário.

I.1.4. Serviços Farmacêuticos

A Farmácia Silcar e a Farmácia Correia de Oliveira têm à disposição dos seus utentes serviços farmacêuticos de valor acrescentado que contribuem para a promoção da saúde e bem-estar junto da população³. Esta dispõe de três gabinetes de atendimento personalizado, o que permite a realização de serviços que passam pela medição da pressão arterial, da glicémia, do Índice de Massa Corporal (IMC), do colesterol total e dos triglicéridos. Ambas as farmácias dispõem também de consultas de podologia e nutrição. Nestas últimas, eram elaborados planos alimentares de acordo com as necessidades de cada utente, sendo complementados com suplementos vitamínicos, de ação diurética ou aceleradora do metabolismo da Aquilea[®] ou da EasySlim[®].

Para além dos serviços farmacêuticos, encontram-se também ao serviço dos utentes o Sistema Integrado de Gestão de Resíduos de Embalagens e Medicamentos (SIGREM), gerido pela Sociedade Gestora de Resíduos de Embalagens e Medicamentos (VALORMED)⁴, a Campanha de Reciclagem de Radiografias por parte da Assistência Médica Internacional (AMI) e o Programa de Troca de Seringas (PTS), cujo objetivo é prevenir a transmissão do Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) e outras infeções cuja transmissão aconteça por via sanguínea entre indivíduos que consomem drogas injetáveis. Desta forma, é assim evitada a partilha de seringas, agulhas e outros materiais de consumo, ao mesmo tempo em que é diminuído o seu abandono em locais públicos. Este programa foi fundado pela Professora Doutora Maria Odette Ferreira e implementado pela Direção Geral de Saúde (DGS) e pelos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde (SPMS, EPE), permitindo existisse uma maior resposta nacional a este tipo de infeções, principalmente ao VIH.

Todos estes serviços tiveram a sua importância no meu estágio, uma vez que proporcionaram uma maior interação com o utente através de variados contextos. O facto das medições bioquímicas decorrerem no gabinete de atendimento personalizado, propiciavam um aconselhamento mais calmo e estimulavam a abordagem de outras questões vitais que, por diversos motivos, não são expostas pelos utentes no balcão de atendimento. Nas consultas de nutrição, a existência de uma complementação com o tipo de produtos referidos anteriormente, permitiu-me aprofundar os meus conhecimentos e aperfeiçoar o meu aconselhamento relativamente a esses. Apesar da recolha de medicamentos por parte da VALORMED, a Campanha de Recolha de Radiografias e o Programa da Troca de Seringas, não se incluírem nos Serviços Farmacêuticos, a explicação da sua importância foi uma constante e permitiram garantir que os utentes conheçam estes procedimentos e os motivos destas necessidades.

1.1.5. Dinamismo na Farmácia

A Farmácia Correia de Oliveira é caracterizada pelo seu dinamismo e interação com os habitantes da região. Na tentativa de dar continuidade e de manter esta sua característica em situação de pandemia COVID-19, foi-me lançado o desafio de ficar responsável pelo dinamismo quer físico, quer das redes sociais da farmácia.

Apesar da supervisão final passar sempre pela Diretora Técnica e pela farmacêutica responsável pela orientação do meu estágio, todo o planeamento semanal, preparação da sala de público e escolha dos temas a sensibilizar e noções básicas de saúde a abordar nas redes sociais eram da minha responsabilidade.

Os dias de dinamização física da farmácia eram escolhidos tendo em consideração o maior fluxo de utentes (geralmente início e final da semana). Neste tipo de ações, procurou-se trabalhar as marcas e as gamas mais recentes na farmácia e as já existentes mas menos conhecidas por parte dos utentes. Deste modo, os utentes tinham conhecimento de um maior leque de opções a satisfazer as suas necessidades, sendo ao mesmo tempo possível evitar que certos produtos se tornassem monos na farmácia. A título de exemplo, foram realizadas ações de dinamização de protetores solares, de cuidado e hidratação corporal e dermocosmética. A nível da dinamização das redes sociais, eram abordados temas como a sensibilização para o uso do VALORMED, a promoção de um estilo de vida saudável e noções básicas das doenças mais frequentes na sociedade portuguesa.

Ao ter à minha responsabilidade estas ações, a familiarização com as diversas marcas, a distinção das diversas gamas de dermocosmética e a gestão e partilha de pequenas noções de um estilo de vida saudável e de determinadas doenças, permitiu-me adquirir um conhecimento bastante mais aprofundado e variado na área da Farmácia Comunitária, espelhando-se num aconselhamento farmacêutico mais completo e confiante.

1.2. Pontos Fracos (*Weaknesses*)

1.2.1. Stocks Reduzidos

Assegurar a existência de um número mínimo e máximo de um determinado produto ou medicamento é um fator relevante para que se consiga a satisfação das necessidades do utente. A existência de *stocks* reduzidos na Farmácia Silcar, sobretudo de medicamentos sujeitos a receita médica, teve um carácter negativo no meu estágio, dado resultar em atendimentos não finalizados e a associação desta falha, por parte do utente, à falta de

competência de quem lhe prestava o serviço de atendimento, neste caso, a falta de competência do estagiário. Muitas das vezes este tipo de situações refletiu-se na insatisfação do utente, mesmo existindo a possibilidade de realizar uma encomenda instantânea.

1.2.2. Insegurança em Determinadas Áreas de Aconselhamento

São várias as áreas em que o farmacêutico necessita de ter um adequado conhecimento para que possa prestar um aconselhamento de qualidade e satisfazer as necessidades do utente. O aconselhamento farmacêutico vai muito além da área dos medicamentos de uso humano, estendendo-se nomeadamente até à ortopedia, medicamentos de uso veterinário, dispositivos médicos, dermofarmácia e cosmética e puericultura.

Algumas destas áreas são abordadas apenas em cadeiras opcionais, resultando numa certa insegurança e falta de confiança no aconselhamento prestado, sendo muitas das vezes necessário recorrer aos restantes membros, mais experientes, da equipa da farmácia. A inexperiência e o nervosismo são fatores que também jogam durante a realidade dos primeiros aconselhamentos, mas, ainda assim, revelam-se uma fraqueza dos alunos do MICEF, deixando deste modo a sugestão da adaptação do plano curricular do mesmo, neste sentido.

1.3. Oportunidades (*Opportunities*)

1.3.1. Sifarma 2020[®]

Durante o EC na Farmácia Correia de Oliveira, tive a oportunidade de acompanhar a implementação do novo Sifarma 2020[®]. Embora este contacto tenha sido na etapa final do meu estágio, consegui ainda usufruir de formações presenciais e *online* prestadas à equipa de modo a existir uma familiarização com o sistema mais fácil e fluida.

O contacto com o novo módulo de atendimento, que substituirá definitivamente o Sifarma 2000[®] a partir do ano civil 2021, possui algumas vantagens relativamente ao anterior. Para além de ser mais intuitivo, a aplicação de descontos internos e campanhas promocionais, a adição de novos componentes mesmo que já se tenha atingido a etapa de pagamento, a separação de faturas por produto e/ou utente e a colocação a crédito, de uma parte da venda, tornou-se muito mais simples e permitiu um atendimento ao balcão mais rápido e prático.

Considerando que apenas uma reduzida parte das farmácias em Portugal tem este novo módulo de atendimento em funcionamento, ter estagiado numa farmácia que integra esta porção foi uma oportunidade bastante proveitosa e útil num futuro numa farmácia.

I.3.2. Formação Complementar Contínua

Segundo o código deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, o farmacêutico tem o dever de “manter atualizadas as suas capacidades técnicas e científicas para melhorar e aperfeiçoar a sua atividade”⁵. É essencial que exista um plano formativo complementar contínuo, de modo a que o farmacêutico consiga estar a par da constante evolução da ciência e do mercado, conseguindo providenciar os melhores cuidados aos utentes da farmácia.

No decorrer do meu estágio na FS e na FCO, foi-me oferecida a oportunidade de participar em formações, nomeadamente na área da dermofarmácia e cosmética e suplementação alimentar. O foco principal destas formações incidia sobre os conceitos da marca, seguindo-se a apresentação das gamas e aplicações dos produtos nas diversas patologias. Nas formações na área da cosmética, era dada relevância às características tecnológicas dos produtos, dado serem noções pertinentes e a ter em consideração aquando o aconselhamento.

Apesar da situação atual face à pandemia COVID-19, foi possível realizar este tipo de formações complementares, tendo sido bastante úteis nos aconselhamentos seguintes e na minha familiarização inicial com o mercado farmacêutico.

I.3.3. Cartão Saúde

O cartão Saúde é o cartão da rede nacional das farmácias portuguesas associadas à Associação Nacional das Farmácias. Este cartão permite aos utentes a acumulação de pontos em compras realizadas em medicamentos não sujeitos a receita médica, em produtos de saúde e bem-estar e cosmética, nas farmácias aderentes, que podem ser posteriormente trocados por produtos em catálogo ou em vales de dinheiro em compras na farmácia.

A FS e a FCO são farmácias aderentes e têm equipas emprenhadas e focadas na dinamização do cartão Saúde. Fui ensinada a encarar as vantagens deste cartão como um complemento à oferta que a farmácia pode proporcionar aos seus utentes, através das pequenas melhorias que estes produtos podem acrescentar ao quotidiano dos utentes. A oportunidade de ter participado ativamente na atribuição e rebate dos pontos, permitiu-me

perceber que, desta forma, é possível marcar a diferença, através da satisfação do utente com o complemento que levou ou com o vale. Deste modo, o utente passa a ter a farmácia em questão como referência, conseguindo assim a sua fidelização.

1.4. Ameaças (*Threats*)

1.4.1. Medicamentos Esgotados

No decorrer do meu EC em Farmácia Comunitária, o número de medicamentos esgotados nas farmácias foi significativo. Apesar de já ter uma noção prévia desta problemática, foi no decorrer do meu estágio que me apercebi da sua dimensão e problemática. Entre janeiro e julho de 2020, o medicamento esgotado com maior impacto na saúde dos utentes foi o Victan[®].

Por ser uma substância ativa única no mercado, não existindo medicamento genérico, quando era solicitado pelo utente a dispensa de um outro medicamento com efeito semelhante, a solução passava pelo encaminhamento ao médico, onde iria averiguar a possibilidade de iniciar outra medicação.

A existência frequente de medicamentos esgotados fez com que a minha credibilidade e a credibilidade da farmácia fosse colocada em causa por parte dos utentes e que estes tivessem de se dirigir a outras farmácias à procura do medicamento.

1.4.2. Pandemia COVID-19

A pandemia COVID-19 trouxe transformações significativas no nosso quotidiano, nomeadamente, no meu EC em Farmácia Comunitária. O confinamento deu-se dois meses após o início do estágio, impossibilitando a sua realização de uma forma contínua e progressiva, uma vez que, quando retomado, houve uma considerável necessidade de adaptação às novas medidas implementadas e à realidade instalada. Antes e após o confinamento, a maioria dos atendimentos eram pedidos de mascarás e álcool gel, tornando-os repetitivos e sem base farmacoterapêutica. A visita de delegados de informação médica só voltou a ser retomada no final do meu estágio e de uma forma mais ponderada, de modo a diminuir o contacto interpessoal, o que fez com que existisse um menor lugar para formações complementares.

A situação pandémica constituiu uma ameaça ao meu estágio, dado que, para além do referido anteriormente, os utentes deslocavam-se à farmácia com o objetivo de adquirir

apenas o estritamente necessário, no menor tempo possível, impossibilitando-me a realização de um atendimento mais pormenorizado, existindo em simultâneo uma menor receptividade dos utentes para tal.

Conclusão

O farmacêutico comunitário desempenha um importante papel na prestação de serviços e promoção da saúde pública, representando a primeira linha de saúde a que a população recorre em situações de urgência, no esclarecimento de dúvidas sobre a terapêutica farmacológica ou simplesmente na procura de uma palavra amiga.

No decorrer do meu estágio curricular na Farmácia Silcar e na Farmácia Correia de Oliveira, adquiri diariamente ferramentas imprescindíveis para exercer o meu papel enquanto futura farmacêutica, especialista do medicamento e agente de saúde pública. A participação ativa nas diversas tarefas com uma equipa que me incutiu profissionalismo e um vasto leque de conhecimentos, deu-me a oportunidade de evoluir diariamente.

É de realçar a oportunidade que a faculdade proporciona aos estudantes, do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, de poderem aplicar, na vertente prática da Farmácia Comunitária, os conhecimentos adquiridos ao longo dos cinco anos de curso, pois só assim foi possível compreender a importância do farmacêutico comunitário e toda a dinâmica de uma farmácia.

Concluo esta etapa com mais consciência do ato farmacêutico e com uma enorme vontade de expandir constantemente o meu conhecimento. As valências que desenvolvi, quer a nível profissional, quer a nível pessoal, vão certamente refletir-se no meu percurso e contribuir para um futuro mais promissor.

Referências Bibliográficas

1. EZFY – **As nossas soluções** [Consultado a 16 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://www.ezfy.eu/as-nossas-solucoes>
2. KAIZEN INSTITUTE – **What is Kaizen?** [Consultado a 7 de abril de 2020]; Disponível em: <https://www.kaizen.com/what-is-kaizen.html>
3. PORTARIA n.º 97/2018. **D.R. Série I 69/2018**. (2020-04-08).
4. VALORMED – **Quem somos**. [Consultado a 7 de abril de 2020]. Disponível em: <http://www.valormed.pt/paginas/2/quem-somos/>
5. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS. – Portal da Ordem dos Farmacêuticos - regulamentos. **Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos**. [Consultado a 16 de outubro de 2020]. Disponível em: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/codigo_deontologico_da_of_4436676175988472c14020.pdf

Anexos

Anexo I - Caso Clínico

O utente A, do sexo masculino e com cerca de 45 anos de idade, dirigiu-se à farmácia para medição do colesterol total, dado não fazer o controlo deste parâmetro há já algum tempo. Acompanhando-o até ao gabinete de atendimento personalizado, realizei o teste do colesterol total, cujas noções sobre os procedimentos a ter já me tinham sido previamente transmitidas.

Após a medição, o resultado obtido foi de 235 mg/dl. Sendo considerado um valor de colesterol elevado, primeiramente sensibilizei o utente A para as medidas não farmacológicas, como a prática de exercício físico e a escolha de uma alimentação saudável e variada, dando preferência a uma dieta pobre em gorduras e rica em fibras, legumes, fruta, peixe, com preferência pelas designadas carnes “brancas”/de aves, colocando de parte as principais fontes de gorduras saturadas, que estão maioritariamente presentes em alimentos de origem animal, como a designada carne “vermelha”/de ruminantes e derivados (enchidos), lacticínios gordos, produtos processados e açúcares simples. Embora o utente me tenha dito que seguia, maioritariamente, uma alimentação saudável, concluí que não estava a ser o suficiente para o controlo dos valores de colesterol. Neste sentido, de forma a complementar as medidas não farmacológicas a seguir, aconselhei a toma de 1 comprimido, à refeição, de BioAtivo® Arroz Vermelho, uma vez por dia, sendo este um suplemento alimentar com o qual me sentia confortável e segura no seu aconselhamento por ter tido anteriormente uma formação complementar sobre a marca, os vários produtos e a sua eficácia. Estes comprimidos são constituídos por levedura de arroz vermelho e monocolina K. A levedura de arroz vermelho resulta da fermentação do arroz com a levedura *Monascus purpureus*. Deste processo, resulta a cor avermelhada e metabolitos bioativos, como a monocolina K. Este metabolito tem a capacidade de inibir a HMG-CoA redutase (3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A redutase) e, assim, diminuir a biossíntese de colesterol.

No final, aconselhei o utente A a realizar uma nova medição de colesterol total, no mínimo, dois meses após o início da toma do suplemento, para que se pudesse averiguar se este valor se encontrava efetivamente controlado, se se tinha verificado uma ligeira descida, mas ainda se justificava a continuação da toma de BioAtivo® Arroz Vermelho ou, posteriormente, numa terceira medição se concluíria ser necessário encaminhamento médico.

Parte II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Grupo Tecnimede

Lista de Abreviaturas

DP – Departamento de Produção

EC – Estágio Curricular

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

IF – Indústria Farmacêutica

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SWOT – *Strengths, Weakness, Opportunities and Threats*

Introdução

A atividade farmacêutica tem-se evidenciado uma área de atuação multidisciplinar. Ainda que o farmacêutico seja especialista numa abordagem terapêutica focada na dispensa rigorosa do medicamento, na área da Farmácia Comunitária, tem revelado também um papel essencial noutras áreas da cadeia do valor do medicamento, como a Distribuição, a Farmácia Hospitalar e a Indústria Farmacêutica, entre outras.

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) é detentor de um plano de estudos de carácter multidisciplinar capaz de proporcionar conhecimentos, teóricos e práticos, nos diversos ramos de ação do farmacêutico. A etapa final do segundo ciclo de estudos do MICF compreende um período de estágio curricular no qual é dada a oportunidade aos seus estudantes de colocar em prática os conhecimentos adquiridos ao longo do percurso académico. Para além dos estágios padrão em Farmácia Comunitária e Farmácia Hospitalar, a FFUC oferece a diferenciadora oportunidade de realização de estágio em áreas como a Indústria Farmacêutica.

De modo a alargar a minha visão da realidade do mercado farmacêutico, optei por complementar o meu período de estágio com uma experiência a nível da Indústria Farmacêutica, mais concretamente na área da Produção^{1,2}. O presente relatório tem como objetivo abordar as atividades desenvolvidas e as competências adquiridas, que considero de maior destaque para o meu futuro profissional, no decorrer do meu estágio realizado nas instalações Grupo Tecnimede, que teve início a 7 de setembro de 2020 e término a 30 de novembro do mesmo ano.

I. Análise SWOT

Após a conclusão do estágio curricular no Grupo Tecnimede, a avaliação e balanço deste é apresentada segundo uma análise SWOT (Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças – traduzido do inglês de *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*). Criada nos anos 60 por Albert Humphrey, esta é uma ferramenta de análise simples, mas concisa, que visa avaliar e identificar fatores que influenciem o funcionamento de uma organização em que é aplicada. Contudo, esta análise é também usada para fins individuais. Pode dividir-se numa componente interna – Pontos Fortes e Pontos Fracos – e numa componente externa – Oportunidades e Ameaças. As primeiras são direcionadas ao assunto em análise, já as segundas são inerentes ao meio envolvente.

Assim, este tipo de análise tem como objetivo servir de ferramenta para a otimização contínua das atividades abordadas que, neste contexto, correspondem ao estágio curricular e aos conhecimentos adquiridos neste.

I.1. Pontos Fortes (*Strengths*)

I.1.1. Produção de Medicamentos em Investigação e Desenvolvimento

A área de Produção do Grupo Tecnimede encontra-se em constante contacto com o Departamento de Investigação e Desenvolvimento, situado no polo de Torres Vedras. A transposição da produção de medicamentos, em fase de investigação e desenvolvimento, da escala laboratorial para a escala industrial é um dos grandes desafios. São também testados ajustes efetuados aos procedimentos de fabrico de produtos que demonstram ter frequentemente complicações no decorrer da sua produção. Nestas situações, existe deslocação de profissionais do polo de Investigação e Desenvolvimento até às instalações fabris, situadas na sede do Grupo Tecnimede, para acompanhamento e avaliação do lote em validação.

Ao longo do meu estágio curricular, foi possível acompanhar de perto este tipo de situações, permitindo-me adquirir noções dos procedimentos a ter para validação de um lote de um produto em *scale-up*, cujo objetivo final é a obtenção de um produto de qualidade, que seja industrializável e competitivo. Para além disso, o contacto com profissionais de outra área foi bastante enriquecedor, o que me permitiu ficar com uma visão ampla dos vários procedimentos a ter até conseguir a industrialização de um produto.

1.1.2. Diversidade de Tarefas e Autonomia ao Longo do Estágio

Ao longo dos três meses de estágio, foram-me atribuídas, gradualmente, múltiplas tarefas diárias pelas quais me fui tornando responsável. A diversidade de tarefas desenvolvidas e a autonomia que me era rapidamente atribuída na sua realização, fomentou o meu sentido de responsabilidade.

O meu estágio iniciou-se pelo acompanhamento do procedimento de fabrico dos diversos medicamentos, junto dos operadores técnicos. Esta etapa foi essencial para me familiarizar com as diferentes máquinas de produção industrial e com o seu funcionamento. Posteriormente, quando consolidadas estas noções básicas da área, foram-me sendo atribuídas tarefas, que tive a oportunidade de desempenhar de forma autónoma, de entre as quais destaco a verificação e aprovação da calibração interna diária das balanças e das células de pesagem, controlo do registo do tempo de mão-de-obra de cada operador envolvido nas várias etapas de fabrico de cada lote industrial, criação de inventários de peças de máquinas para posterior análise do procedimento de destruição e verificação dos registos dos diversos processos de fabrico segundo as *Good Manufacturing Practices*³.

Considero que a multiplicidade de tarefas e a autonomia ao longo do estágio foram pontes fortes relevantes, dado contribuírem para que o trabalho desenvolvido fosse de exigência crescente e tivesse uma ligação lógica, permitindo-me compreender o propósito das tarefas que me foram alocadas gradualmente e aprimorar algumas *soft skills*, como a capacidade de organização, a autonomia e o relacionamento interpessoal.

1.1.3. Aplicação dos Conhecimentos Adquiridos ao longo do MICF

O Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas proporciona aos seus estudantes uma formação ampla e diversificada em múltiplas áreas, proporcionando uma preparação profissional diferenciadora. Com a realização deste estágio, houve a possibilidade de aplicar os conhecimentos teóricos e práticos adquiridos no decorrer do meu percurso académico, nomeadamente as valências de Tecnologia Farmacêutica, Gestão e Garantia da Qualidade e Assuntos Regulamentares.

Apesar do bom plano de estudos que o MICF oferece, o processo de aprendizagem é contínuo e justifica a importância do estágio curricular, em que as valências previamente adquiridas são, sobretudo, aprofundadas e consolidadas, assimilando-se simultaneamente novas ferramentas e conhecimentos práticos complementares.

1.1.4. Gestão de Tempo

A gestão de tempo foi uma das *softskills* que mais aprimorei ao longo do meu EC. Com o decorrer do estágio, fui adquirindo cada vez mais autonomia e, conseqüentemente, o número e a diversidade de tarefas que me foram atribuídas também foram aumentando.

Assim, surgiu a necessidade de planear as mesmas, definindo prioridades e identificando os principais objetivos semanais a cumprir. A capacidade de organização foi fulcral e refletiu-se positivamente na minha produtividade e rentabilidade de tempo.

1.2. Pontos Fracos (*Weaknesses*)

1.2.1. Falta de Contacto com Outros Departamentos

O contacto com os restantes departamentos, nomeadamente dos que não se encontravam no edifício fabril, ficou um pouco aquém. Considero que ter uma noção geral da forma como os diferentes departamentos interagem e estão interligados entre si em prol de um objetivo comum é deveras importante. Deste modo, apesar do contacto com o Departamento de Garantia da Qualidade e o Departamento de Controlo de Qualidade ter existido, embora que de uma forma mínima, considero que ter existido um maior contacto com outros departamentos, nomeadamente com os dois departamentos referidos, teria sido um fator de enriquecimento desta experiência, uma vez que ficaria com uma noção mais integrada do Grupo Tecnimede, particularmente do edifício fabril.

1.2.2. Duração do Período de Estágio

A diversidade e complexidade das tarefas e procedimentos inerentes à área da Produção, aliados ao tempo total necessário para a produção de um lote industrial, fazem com que seja necessário um longo período de aprendizagem. De modo a conseguir familiarizar-me com os procedimentos de fabrico dos diversos medicamentos, realizar e acompanhar, em simultâneo, as restantes responsabilidades de um farmacêutico na área da Produção, considero que os três meses de duração do estágio foram escassos para consolidar e adquirir, de uma forma mais aprofundada, muitas dos conhecimentos transmitidos.

Para além disso, o facto da Produção se encontrar em trabalho 24h por dia e do fabrico de um lote muitas vezes se estender pelos vários turnos, contribuiu para que não conseguisse acompanhar a sua produção completa.

I.3. Oportunidades (*Opportunities*)

I.3.1. Importância da Realização do Estágio em Indústria Farmacêutica

A Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra é a única que proporciona aos seus estudantes a oportunidade de realizarem estágio curricular na área da Indústria Farmacêutica. Tal é sem dúvida um fator de diferenciação relativamente aos outros estudantes de Ciências Farmacêuticas e que será, seguramente, um fator de distinção no futuro.

Este tipo de oportunidade permite-nos contactar com a Indústria Farmacêutica (IF) e os seus diversos ramos, para além das estigmáticas saídas profissionais em Farmácia Comunitária ou Farmácia Hospitalar. Na IF, é significativa a diversidade de oportunidades oferecidas e esta experiência permitiu-me alargar horizontes e aprofundar os meus conhecimentos.

I.3.2. Contacto com Diversos Equipamentos Industriais

A diversidade de tarefas por mim desempenhadas a nível de produção permitiu-me o contacto com os diversos equipamentos industriais. Através deste contacto, adquiri noções e técnicas de utilização destes equipamentos, com os quais nunca tinha contactado anteriormente, com exceção dos existentes na sala de *In Process Control* (equipamentos de dissolução, desagregação, granulometria, dureza, entre outros).

Deste modo, foi possível contactar com equipamentos industriais, como os vários tipos de máquinas de compressão, de granulação e secagem, de calibração e de revestimento, percebendo as suas limitações e diferenças entre estas.

I.4. Ameaças (*Threats*)

I.4.1. O Custo da Produção

A área da Produção é uma das áreas da Indústria Farmacêutica onde existe um grande investimento. A atividade nesta área é bastante exigente e morosa e, deste modo, é fundamental que se tenha em mente o objetivo central deste processo: um produto de qualidade.

Para além do investimento financeiro, a dimensão temporal da produção de um lote industrial até à sua embalagem é significativa, não considerando situações em que é

necessária uma verificação manual de conformidade do aspeto visual do produto. Durante o meu estágio, pude presenciar a verificação de conformidade de comprimidos e cápsulas, por deteção de alguns comprimidos decaídos e cápsulas com deficiente encapsulação, devido a irregularidades que surgiram nas máquinas. Estas verificações decorreram durante pelo menos três dias consecutivos, variando consoante as dimensões de cada lote.

Com isto, no decorrer do meu estágio, foi notório que o tempo investido diariamente nas diversas fases de produção pode não ser inicialmente o previsto, estando dependente de diversos fatores que surgem de forma inesperada, nomeadamente a nível técnico das máquinas. As não conformidades surgidas são uma ameaça própria da área e refletem-se num aumento do custo da produção do lote, que em situações extremas, poderá resultar num completo não aproveitamento do produto.

Conclusão

Ao depararmo-nos com um mundo cada vez mais desafiante e competitivo, a capacidade de diferenciação adquirida através de formação de qualidade nas diversas áreas é um fator decisivo. A oportunidade que a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra oferece aos seus estudantes de realizarem estágio curricular nas diversas áreas nas quais o farmacêutico desempenha um papel predominante, para além da Farmácia Comunitária e Farmácia Hospitalar, é uma mais-valia e um fator diferenciador.

Embora de duração limitada, a oportunidade de estagiar em Indústria Farmacêutica revelou-se extremamente enriquecedora e gratificante. Este primeiro contacto, na sede de uma multinacional farmacêutica, como é o Grupo Tecnimede, permitiu-me perceber o funcionamento de uma nova realidade e assimilar novas valências a nível profissional e fomentar competências a nível pessoal, como a gestão de tempo, a organização, a responsabilidade e a relação interpessoal.

Termino esta jornada, com a convicção de que tal se refletirá na minha postura e desempenho profissional e com uma melhor perceção da forma como a Indústria Farmacêutica está relacionada com a saúde pública, confirmando, sobretudo, o meu gosto por esta área.

Referências Bibliográficas

1. GRUPO TECNIMEDE – **Sobre**. [Acedido a 23 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://www.tecnimedede.com/pt/grupo-tecnimedede/sobre>
2. GRUPO TECNIMEDE – **Missão e Valores**. [Acedido a 23 de outubro de 2020]. Disponível na Internet: <https://www.tecnimedede.com/pt/grupo-tecnimedede/missao-e-valores>
3. GRUPO TECNIMEDE – **Produção**. [Acedido a 18 de outubro de 2020]. Disponível em: <https://www.tecnimedede.com/pt/producao/atlantic-pharma/empresa>

Parte III

Monografia

“Potencial do Microbioma Intestinal Humano nas Estratégias
de Tratamento”

Resumo

Ao longo dos últimos anos, com a acessibilidade e avanço das tecnologias de sequenciação, o microbioma intestinal humano tem sido intensamente explorado. Tem-se vindo a verificar que a microbiota intestinal desempenha um papel crucial na saúde e doença humana.

Estudos realizados nos últimos anos demonstram a existência de uma correlação entre a microbiota intestinal humana e a eficácia das estratégias de tratamento farmacológicas. Quando o equilíbrio destes microrganismos é quebrado, a suscetibilidade e prevalência de doenças torna-se maior, tendo sido associadas diversas patologias, onde se incluem, a título de exemplo, as doenças inflamatórias intestinais, o cancro e a depressão.

A diferente exposição de cada ser humano a fatores como o tipo de parto, a idade, a dieta, entre outros, conduz a uma microbiota única de cada indivíduo. A especificidade e individualidade da microbiota intestinal humana sugerem a possibilidade da sua utilização como estratégia de tratamento, de forma a ser adequada às características de cada organismo.

Com efeito, estas comunidades microbianas complexas podem influenciar e alterar o nosso estado fisiológico ou até curar determinadas doenças através de uma intervenção terapêutica adaptada ao microbioma de cada um, razões pelas quais o número de estudos nesta área tem aumentado exponencialmente.

Neste sentido, a abordagem desta monografia passa pela revisão das descobertas mais recentes relativamente à capacidade da microbiota intestinal alterar a resposta do organismo humano às terapêuticas medicamentosas.

Palavras-chave: Microbioma; Microbiota; Intestino; Terapêutica Farmacológica.

Abstract

Over the past few years, with the advance and the accessibility of new technologies, the human gut microbiome has been drastically explored. It has been discovered that the gut microbiota plays a crucial role in health and human diseases.

In recent past years studies have shown the existence of a correlation between the human gut microbiota and the effectiveness of pharmacological treatment strategies. When the balance of these microorganisms is broken, the susceptibility and prevalence of diseases has been increased, having been associated with several pathologies, including, inflammatory bowel diseases, cancer, depression and obesity.

The different exposure of each human being to factors like type of birth, age, diet, among others, that lead to a unique microbiota for each individual. The specificity and individuality of the human gut microbiota suggests the possibility for transforming treatment strategies, in order to be adapted to the characteristics of each organism.

These complex microbial communities can influence and change our physiological state or even cure certain diseases through a therapeutic intervention adapted to each one's microbiome, reasons for which the number of studies in this area has increased exponentially.

Therefore, the approach of this monograph involves the reviewing of the most recent discoveries regarding the ability of the gut microbiota to transform the human organism's response to drug therapies.

Keywords: Microbiome; Microbiota; Gut; Pharmacological Therapy.

Lista de Abreviaturas

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

Ag – Antígeno

CCR – Cancro Colo-retal

CIDs – Doenças Inflamatórias Crônicas (do inglês: *Chronic Inflammatory Diseases*)

CU – Colite Ulcerosa

DC – Doença de Crohn

DIIs – Doenças Inflamatórias Intestinais

EHEC – *Escherichia coli* enterohemorrágica (do inglês: enterohemorragic *Escherichia coli*)

HMP – Projeto Microbioma Humano (do inglês: *Human Microbiome Project*)

Ig – Imunoglobulina

IMAOs – Inibidores da Monoamina Oxidase

SCFAs – Ácidos Gordos de Cadeia Curta (do inglês: *Short-chain Fatty Acids*)

SNC – Sistema Nervoso Central

SNPs – Polimorfismos de um Único Nucleótido (do inglês: *Single Nucleotide Polymorphisms*)

SSRIs – Inibidores Seletivos da Recaptação de Serotonina (do inglês: *Selective Serotonin Reuptake Inhibitor*)

Th – Linfócitos T auxiliares (do inglês: *T-helper Cells*)

TLRs – Recetores *Toll-like* (do inglês: *Toll-like Receptors*)

TMF – Transplante da Microbiota Fecal

Treg – Linfócitos T reguladores

Lista de Figuras

Figura 1 – Ácidos gordos de cadeia curta enquanto metabolitos da microbiota intestinal.

Figura 2 – Putativa cadeia de acontecimentos que induz as doenças inflamatórias crônicas.

Figura 3 – Fotografia representativa do colón de indivíduos com doença de Crohn, colite ulcerosa e saudáveis.

Figura 4 – A radiação terapêutica ionizada atua de duas formas.

Figura 5 – Processo do transplante da microbiota fecal.

Introdução

O termo microbioma define a comunidade de microrganismos existentes num determinado local e o seu respetivo material genético¹. Já o termo microbiota refere-se apenas aos microrganismos constituintes das diversas comunidades^{1,2}. Comparativamente com o genoma humano, o microbioma contém um número de genes, pelo menos, 100 vezes maior, revelando também uma maior facilidade em sofrer alterações, uma vez que é suscetível a diversos fatores^{3,4}.

Cada ser humano possui um microbioma único e esta extensa heterogeneidade espelha-se numa variação na ordem dos 70-90%. Estas comunidades simbióticas presentes em diversos locais de um mesmo organismo detêm características próprias, consoante a sua localização, que se mantêm estáveis ao longo do tempo⁵. Tais diferenças permitem caracterizar e definir os diversos microbiomas, nomeadamente, da pele, da cavidade oral, vaginal, trato respiratório e intestinal³.

O ser humano nasce com um número de microrganismos reduzido, desenvolvendo o seu microbioma durante os primeiros anos de vida³. Mais tarde, numa fase adulta, é atingida a homeostasia da relação hospedeiro-microrganismos². O processo de desenvolvimento do microbioma humano é dinâmico e envolve diferentes estádios, variando assim de indivíduo para indivíduo e ao longo do tempo⁵. Numa condição saudável, verifica-se um equilíbrio dinâmico da microbiota. Quando existe uma alteração ou desequilíbrio na comunidade microbiana, estamos perante uma disbiose, estado este que contribui para o aumento da suscetibilidade e prevalência de doenças. São exemplos alguns distúrbios da pele, infeções vaginais bacterianas, obesidade, doenças inflamatórias, entre outros^{3,5}.

Estas comunidades microbianas complexas podem afetar a saúde do ser humano de duas formas – alterando o estado fisiológico do indivíduo ou auxiliando na cura de determinadas doenças, através de uma intervenção terapêutica personalizada e adaptada ao microbioma de cada um⁵. Os estados de doença conseguem ser identificados pelos desvios à normalidade do microbioma humano saudável². Com a maior acessibilidade às tecnologias de sequenciação existente nos dias de hoje, é possível categorizar os microrganismos presentes no organismo humano, possibilitando estabelecer diferenças e semelhanças entre microbiotas humanas². Apesar de ser elevada a variabilidade, quer de indivíduo para indivíduo quer entre diferentes partes de um mesmo organismo, tem-se procurado definir um estado microbiano saudável. Este é um passo crítico para a descoberta de como é que as

alterações e variações do microbioma podem causar ou contribuir para uma vasta gama de doenças².

O Projeto do Microbioma Humano (HMP) começa a elucidar este tipo de variações². O HMP foi criado em 2008 pelo Instituto Nacional de Saúde Americano (*National Health Institute*) em conjunto com centros de sequenciação, tendo a missão de conhecer o genoma microbiano e caracterizar o microbioma humano relativamente à sua diversidade, abundância e funcionalidade dos genes dos microrganismos que habitam permanentemente no organismo humano^{6,7}. Este projeto fornece ainda parâmetros essenciais para a monitorização e implementação de estratégias de manipulação intencional do microbioma⁶. Segundo os investigadores, é imperativo entender e conhecer pormenorizadamente o microbioma de cada indivíduo, as alterações existentes nos estados de doença e ainda os fatores que podem ser benéficos ou prejudiciais para o microbioma do indivíduo, para que possa ser aplicada uma terapêutica de sucesso. Estes são os motivos pelos quais o número de estudos nesta área tem crescido exponencialmente³.

É no trato gastrointestinal, mais precisamente no intestino, que se encontra a maior diversidade e o maior número de microrganismos. Desta forma, a influência sobre os mecanismos homeostáticos do ser humano torna-se também mais elevada. Nesta monografia, é dada particular atenção ao microbioma intestinal humano, visto ser o que maior influência tem na saúde do indivíduo e o que é mais facilmente modelado (por alterações no regime alimentar, por exemplo)³. Pode ainda ser manipulado através da introdução de microrganismos benéficos (como os probióticos) ou removendo determinados microrganismos prejudiciais (através da toma de antibióticos)³. Todos estes fatores podem ser promissores de uma terapêutica personalizada e de sucesso, sendo os principais objetivos deste trabalho explorá-los e compreender o potencial da microbiota intestinal humana na transformação das estratégias de tratamento.

I. O Microbioma Intestinal Humano

É no trato gastrointestinal que se encontra a maior comunidade de microrganismos que coabita com os seres humanos. De entre os cem trilhões de microrganismos que habitam o intestino, estão presentes bactérias, fungos, *Archaea* e vírus⁴. Apesar de os primeiros se encontrarem em maior número, todos mantêm, em conjunto, o equilíbrio metabólico, ecológico e dinâmico deste ecossistema⁸.

Há variação na quantidade e diversidade dos microrganismos presentes ao longo do trato gastrointestinal, verificando-se um aumento de ambos os fatores do duodeno até ao cólon⁵. Os filos Bacteroidetes e Firmicutes são cerca de 70 a 75% da constituição da microbiota intestinal bacteriana, no organismo adulto. Já os filos Cyanobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria e Verrucomicrobia, onde se integram outras espécies bacterianas, encontram-se em menor abundância⁹. Num período pós-natal e até ocorrer o desenvolvimento e maturação da microbiota intestinal, predominam os filos Actinobacteria e Proteobacteria⁹. Estes últimos são os mais estáveis e, por isso, os menos suscetíveis a perturbações no microbioma. Embora todos estes microrganismos se encontrem presentes na maioria dos indivíduos, verificam-se sempre variações nas proporções e espécies presentes.

Apesar do microbioma intestinal de um adulto se manter relativamente estável ao longo do tempo, estas variações surgem devido a um conjunto de fatores extrínsecos e intrínsecos, de onde se destacam principalmente as condições sanitárias, mudanças no estilo de vida, tratamento farmacológico (principalmente com recurso a antibióticos) e o tipo de dieta, sendo este último o de maior relevância nas variações intra e interpessoais do microbioma¹.

A presença destes microrganismos comensais propicia o desempenho de várias e importantes funções para o hospedeiro, para além de complementar a sua fisiologia e manter a homeostasia do organismo⁴. A microbiota intestinal possui um papel ativo a nível do processo digestivo, no desenvolvimento e reforço do sistema imunológico, assim como nos processos inflamatórios, trazendo benefícios para a saúde humana. Contudo, alterações no microbioma intestinal humano podem refletir-se em disbioses, trazendo complicações a nível da saúde, de onde surge uma variedade de estados de doença. Nesta variedade incluem-se os distúrbios metabólicos (como a *Diabetes mellitus*), as doenças inflamatórias intestinais, alergias, obesidade e ainda o desenvolvimento de cancro (nomeadamente a nível gástrico, colo-retal e da próstata)^{1,3}.

1.1. Microbioma Intestinal nos Primeiros Anos de Vida

Até que se atinja um microbioma estável, característico do indivíduo adulto, ocorre um aumento gradual da complexidade da microbiota intestinal, durante os três primeiros anos de vida⁹. Os seres humanos nascem com um número de microrganismos reduzido, adquirindo a sua microbiota durante o crescimento, onde o meio envolvente, a alimentação, o tipo e o parto a termo são fatores com elevada influência³.

A dieta do primeiro ano de vida define o microbioma intestinal de cada indivíduo, uma vez que influencia o tipo de bactérias presentes no intestino². A alimentação com recurso ao leite materno espelha uma microbiota mais rica e complexa em *Bifidobacterium* (pertencente ao filo Actinobacteria) relativamente à alimentação com recurso a fórmulas infantis⁹.

O nascimento é a primeira etapa da colonização do intestino, uma vez que a microbiota intestinal é influenciada pelo tipo de parto realizado⁸. A presença de bactérias dos géneros *Lactobacillus* (filo Firmicutes) e *Prevotella* (filo Bacteroidetes) é bastante elevada no microbioma vaginal materno^{8,9}. Deste modo, um bebé nascido em condições de parto normal, encontra-se exposto a estes géneros, que propiciam um ótimo desenvolvimento da microbiota. Por outro lado, num nascimento por cesariana, não ocorre a exposição a este tipo de ambiente, mas sim a géneros como *Staphylococcus* (filo Firmicutes) e *Corynebacterium* (filo Actinobacteria), contribuindo assim para que existam grandes diferenças na composição da microbiota⁸.

Os recém-nascidos via parto pré-termo apresentam um funcionamento intestinal imaturo, comparativamente aos nascidos por parto a termo, e também uma menor diversidade microbiana⁹.

Em suma, o nascimento por parto natural e a amamentação resultará numa maior semelhança entre o microbioma da mãe e da criança³. Também fatores como o ambiente familiar, a genética, a toma de antibióticos, o stress físico e psicológico da mãe, assim como a sua alimentação, moldam a microbiota intestinal do recém-nascido e afetam o microbioma em fase precoce de vida⁸.

1.2. Funções da Microbiota Intestinal

A simbiose consiste numa interação constante entre dois organismos de espécies diferentes, que vivem em conjunto. As relações simbióticas incluem outras interações biológicas, como o mutualismo, o parasitismo e o comensalismo. No mutualismo, ambas as

espécies beneficiam da interação, enquanto que, no comensalismo, apenas uma beneficia. Já no parasitismo, a interação acaba por ser prejudicial para o hospedeiro⁷.

Na relação simbiótica existente entre o microbioma e o organismo humano, o comensalismo é, de um modo geral, a interação mais comum, de onde resultam diversos benefícios para a saúde humana¹. A presença de bactérias comensais na microbiota intestinal permite que esta desempenhe múltiplas funções, quer a nível do processo digestivo, quer do desenvolvimento e reforço do sistema imunológico, assim como nos processos inflamatórios^{1,4,7}.

Uma função amplamente reconhecida é a nível do processo digestivo, através da biossíntese de vitaminas essenciais e no auxílio da digestão de polissacarídeos de origem vegetal (provenientes de fibras indigeríveis da dieta), promovendo consequentemente uma melhor absorção de nutrientes^{4,10}. Este processo é realizado por fermentação bacteriana, de onde resultam ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs), como o acetato, propionato, butirato e lactato⁴. Os três primeiros encontram-se presentes em maior quantidade e são produzidos maioritariamente por bactérias do filo Bacteroidetes e Firmicutes⁴. Os SCFAs são a classe de metabolitos bacterianos mais bem caracterizada, uma vez que é evidente a sua influência na imunidade e resistência à colonização intestinal do hospedeiro (Figura 1).

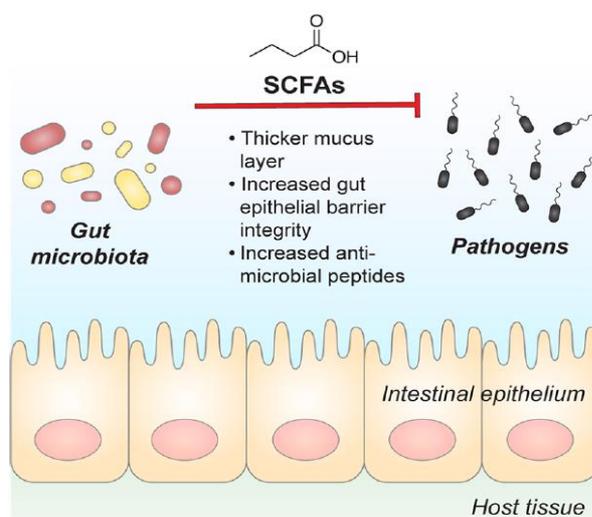


Figura 1 – Ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs) enquanto metabolitos da microbiota intestinal. Mediadores responsáveis pelo aumento da função barreira intestinal, permitindo uma resistência à colonização por agentes patogénicos entéricos. (Adaptada de [4])

São vários os mecanismos em que estes metabolitos atuam. Um deles é através da modelação da função de barreira intestinal do hospedeiro. Na privação de uma dieta rica em fibras, verifica-se um aumento da proliferação de espécies bacterianas que, quando em grandes quantidades, se tornam prejudiciais, pois provocam a degradação da barreira intestinal. Em casos como este, a presença destes metabolitos torna-se essencial. Assim, por exemplo, o acetato, produzido pelas *Bifidobacteria*, protege a barreira epitelial intestinal ao

bloquear a recaptação das toxinas produzidas por bactérias prejudiciais, protegendo assim o hospedeiro contra a infeção por *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157:H7. O propionato inibe o crescimento da *Salmonella enterica* por mecanismos que incluem a alteração do pH homeostático intracelular do agente patogénico e inibição da produção de proteínas responsáveis pela virulência deste agente. O butirato protege contra a invasão por *Camphylobacter jejuni* através do aumento da integridade da barreira intestinal, dado ter a capacidade de regular a apoptose, proliferação e diferenciação celulares, ativar a resposta inflamatória e inibir o aumento da permeabilidade intestinal. Por último, o propionato e o butirato são ainda responsáveis pela diminuição da internalização de *Staphylococcus aureus* e aumento dos peptídeos antimicrobianos produzidos pelas células epiteliais intestinais (enterócitos)⁴.

Quando se verificam danos na homeostase epitelial, as bactérias comensais são ainda capazes de ativar recetores específicos, os designados *toll-like receptors* (TLRs), desencadeando-se a produção de proteínas *heat shock*. Estas atuam enquanto fatores protetores da homeostase intestinal e estão envolvidas no funcionamento e maturação do sistema imunológico, regulando quer a imunidade inata quer a imunidade adquirida⁴.

Mais ainda, na composição do muco que cobre a barreira intestinal encontram-se linfócitos B, produtores de anticorpos, imunoglobulina A (IgA) e imunoglobulina M (IgM)^{1,2}. A estimulação desta produção ocorre, consequência, dos metabolitos libertados pelos microrganismos presentes no intestino. Quando estes microrganismos são estimulados, libertam metabolitos de pequenas dimensões, como os SFCAs, triptofano e metabolitos adicionais (ácidos biliares secundários, vitamina B2 e B6 e D-aminoácidos). Assim, estes metabolitos atuam como mediadores da ativação do sistema imunológico⁴.

Efetivamente, a microbiota intestinal desempenha múltiplas funções e tem um impacto importante no sistema imunológico². Ao estimular a regeneração das células epiteliais, limitar a penetração de bactérias através da secreção de IgA e IgM e nutrir a mucosa intestinal através dos SCFAs produzidos. A microbiota intestinal é também responsável por um reforço importante da barreira intestinal e pela resistência à colonização do intestino por agentes patogénicos entéricos, protegendo o hospedeiro de possíveis infeções gastrointestinais^{1,4}.

2. A Microbiota Intestinal na Doença e Saúde Humana

A microbiota intestinal humana é muitas vezes mencionada como “o órgão esquecido”, dado desempenhar uma variedade de funções quer a nível metabólico, imunológico e na promoção de uma relação simbiótica entre microrganismos-hospedeiro¹⁴. É através destas funções, embora básicas, que consegue afetar, direta e indiretamente, muitas funções fisiológicas do ser humano¹⁵. Esta reflete também as mudanças ambientais a que o hospedeiro esteve exposto ao longo do tempo, assim como a sua história genética. O conjunto de fatores que influencia a microbiota é vasto, sendo os principais a dieta, a idade, a genética, a geografia e o stress. Estes fatores conseguem alterar a composição da microbiota intestinal e a sua capacidade de produção de compostos bioativos com determinados efeitos biológicos, podendo trazer efeitos benéficos para a saúde humana ou conduzir a uma maior suscetibilidade a doenças¹¹.

Assim, por um lado, a alteração da estrutura da população microbiana, pode dar-se por introdução ou extinção de determinados microrganismos e, por outro, pela alteração do padrão de espécies microbianas, resultando numa variação funcional da microbiota intestinal do hospedeiro¹². Estas perturbações, que podem ser induzidas por fatores exógenos, como o uso de antibióticos ou alterações alimentares, são responsáveis pelo desequilíbrio do elevado nível organizacional e das características destas populações. Ao longo do seu desenvolvimento e envelhecimento, todos os indivíduos se encontram sujeitos a estas perturbações, embora de uma forma mais particular nos estados de doença, tornando-se assim importante entender se estas são predeterminadas então por fatores exógenos, pelas características genéticas do hospedeiro ou por se estar perante um estado de doença^{12,13}.

O facto da microbiota intestinal ser distinta entre indivíduos, contribui para que a suscetibilidade à doença, gravidade e resposta ao seu tratamento seja diferente. Perante uma condição saudável, há um equilíbrio dinâmico quer entre microrganismos, quer entre microrganismos-hospedeiro. As interações microbioma-hospedeiro desempenham um papel importante na suscetibilidade à doença e nos efeitos microbiológicos na imunidade e metabolismo do hospedeiro^{12,13}. Deste modo, a alteração dos mecanismos metabólicos e imunológicos são estratégias óbvias que permitem modificar o risco de doenças¹².

O termo metagenoma diz respeito à informação genética de uma população complexa constituída pelos genomas dos diversos microrganismos existentes na amostra proveniente do hospedeiro, obtendo-se assim informações relativas ao potencial das funções genéticas da população em questão. A evolução das tecnologias bioinformáticas de

sequenciação tem permitido a elucidação metagenómica do microbioma intestinal humano e a descrição das variações das populações de microrganismos entre hospedeiros saudáveis e em estado de doença^{12,13}. O principal objetivo e desafio dos estudos realizados atualmente é perceber quando é que se verifica uma ligação causal entre a patologia e a variação do microbioma intestinal, uma vez que este conhecimento poderá conduzir a novas oportunidades de diagnóstico, prognóstico e tratamento de várias doenças humanas, tornando-se um ponto de partida para a medicina humana preventiva e para a gestão médica das doenças crónicas^{12,13}.

Muitos destes estudos comprovaram a existência de uma relação entre uma microbiota alterada e a predominância de distúrbios gastrointestinais, mas também estados de doença. Contudo, a transposição destes estudos, muitas vezes não realizados em seres humanos devido a algumas limitações, deve ser bastante cautelosa. Mesmo quando realizados em indivíduos, existem fatores limitantes por parte do *design* do estudo e na seleção dos pacientes. Ainda assim, tem-se verificado um enorme e rápido progresso nesta área. As tecnologias bioinformáticas permitiram a descrição genética e metabólica destes microrganismos e a sua identificação. A investigação aprofundada destas noções continua e este conhecimento detalhado tem permitido definir os constituintes da microbiota, conhecer os metabolitos que produzem (recorrendo a técnicas metabólicas) e perceber as funções destes microrganismos (através da análise do seu genoma). Tudo isto tem contribuído e gerado interpretações significativas^{12,13}.

2.1. O Intestino e a Doença

Já Hipócrates, há dois mil e quinhentos anos atrás, afirmara que “Todas as doenças começam no intestino”. Apenas nas últimas décadas, a sua intuição começou a ser profundamente apreciada devido ao drástico aumento de diversas doenças inflamatórias crónicas (CID) na população humana, como alergias, infeções, doenças autoimunes, doenças neurodegenerativas e cancro¹⁴.

Quando o Projeto do Genoma Humano se encontrava ainda em planeamento, predominava a hipótese de que os fatores ambientais e a predisposição genética eram suficientes para se desenvolver uma CID. Trinta anos mais tarde, com este projeto, concluiu-se que os cerca de vinte e três mil genes humanos não bastam para explicar tais alterações na fisiologia humana. O estado de saúde ou doença depende da interação entre o indivíduo e o ambiente em que este habita e é também regulado por uma interface biológica,

com 8 a 9 metros de comprimento, que separa o organismo humano do meio envolvente – o intestino humano¹⁴.

Atualmente, com a melhoria das condições de vida e de higiene, nomeadamente nos países Ocidentais, o meio que envolve o ser humano tem sido alvo de mudança, refletindo-se em alterações na sua microbiota intestinal. Esta diminuição da exposição a microrganismos tem sido encarada como uma das possíveis causas do aumento da incidência das CIDs – essência da hipótese higiénica. As mudanças registadas na microbiota espelham-se na sua composição, numa tolerância nas respostas imunológicas e no aumento inapropriado da permeabilidade intestinal^{13,14}.

O aumento da permeabilidade intestinal, provocado pela perda da função de barreira da mucosa, influencia a interação entre o sistema imunológico-microbioma intestinal e o tráfego de antígenos, sendo estes dois fatores cruciais na modelação da atividade do sistema imunológico do indivíduo e, por sua vez, no aparecimento das doenças inflamatórias crónicas. Estudos pré-clínicos e clínicos, comprovaram que um grupo de proteínas modeladoras da permeabilidade intestinal – a família zonulina – está envolvido na patogénese de múltiplas CIDs, incluindo doenças metabólicas, autoimunes, intestinais e tumorais¹⁴.

A zonulina tem sido, até ao momento, o único modelador envolvido na permeabilidade intestinal tão amplamente descrito e explorado na saúde e doenças humanas. As disbioses intestinais provocam a ativação exacerbada da via da zonulina, que resulta no aumento significativo da permeabilidade intestinal¹⁴.

A Figura 2 representa uma possível cadeia de acontecimentos que induzem as doenças inflamatórias crónicas, envolvendo a família zonulina.

Loss of Mucosal Immune Homeostasis

Chronic Inflammation-Allergy

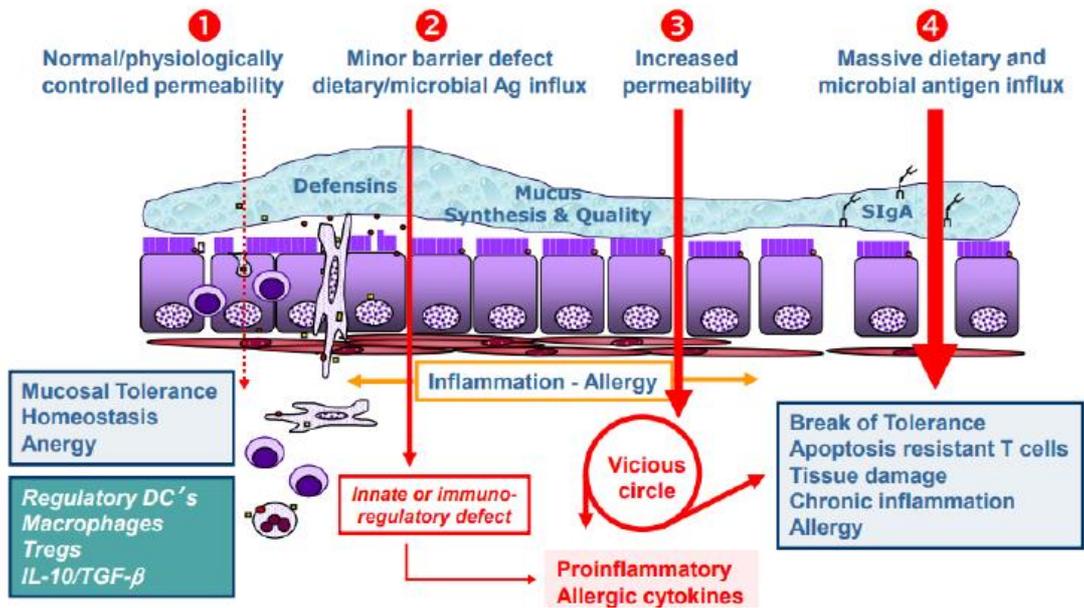


Figura 2 – Putativa cadeia de acontecimentos que induz as doenças inflamatórias crónicas. (1) Em condições fisiológicas, existe um rigoroso controlo no tráfego de antígenos. **(2)** A produção exacerbada de zonulina, causada por disbioses intestinais, conduz à perda da função de barreira intestinal. Segue-se o tráfego de endotoxinas e antígenos, provenientes da microbiota, para a lâmina própria despontando respostas imunoreguladoras e inatas que resultam numa situação pro-inflamatória. **(3)** É então criada uma resposta imunitária adaptativa, com produção de citocinas pro-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e o interferão gama (IFN- γ) que conduz à abertura das *tight junctions* entre enterócitos e, por sua vez, passagem dos antígenos gerando um ciclo vicioso. **(4)** No final, este processo reflete-se na perda de tolerância e início do desenvolvimento de uma doença inflamatória crónica, em que a genética do hospedeiro definirá o tecido ou órgão-alvo. (Adaptada de [14])

3. Alterações da Microbiota Intestinal e Estados de Doença

Ao ser cada vez mais exaustiva a investigação de como é que a microbiota influencia o hospedeiro e a possibilidade das disbioses intestinais serem a causa de doenças, principalmente de CIDs, de seguida, serão abordadas algumas das patologias que apresentam uma perspetiva integrada do microbioma intestinal humano neste contexto¹⁶.

3.1. Doenças Inflamatórias Intestinais

As doenças inflamatórias intestinais (DIIs) são de carácter crónico e afetam o trato gastrointestinal, assinalando-se uma alternância entre estados de remissão e estados inflamatórios, causando um impacto negativo, significativo, na qualidade de vida dos doentes. Nelas englobam-se a colite ulcerosa (CU) e a doença de Crohn (DC), sendo de grande prevalência na população e responsáveis por sintomas clínicos de dor abdominal, perda de peso, diarreia sanguinolenta ou não, entre outros sintomas que dependem da gravidade da doença¹⁸.

A CU consiste numa lesão inflamatória difusa e contínua da camada que reveste internamente o intestino grosso, podendo afetar qualquer extensão desde o cólon até ao reto¹⁸⁻²¹. A mucosa intestinal destes doentes encontra-se inflamada e com pequenas feridas na superfície, podendo sangrar e produzir uma quantidade excessiva de secreções²⁰.

A DC é uma inflamação granulomatosa que surge em porções descontínuas e que já afeta todo o trato gastrointestinal, embora mais comumente o íleo terminal e o cólon, dado serem as zonas com maior abundância bacteriana¹⁸⁻²¹. Para além dos sintomas já mencionados, podem surgir outros não relacionados com o aparelho digestivo, como por exemplo, lesões na pele e dores nas articulações. É também frequente a acumulação de gordura mesentérica.

A Figura 3 evidencia as diferenças entre o cólon de um indivíduo saudável, com a doença de Crohn e com colite ulcerosa.

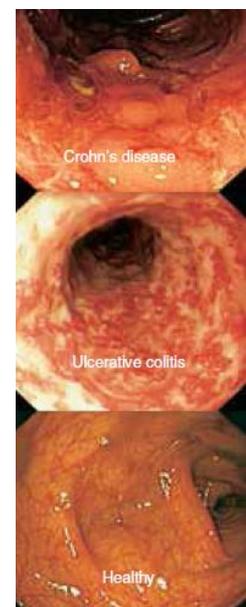


Figura 3 – Fotografia representativa do colón de indivíduos com doença de Crohn, colite ulcerosa e saudáveis. (Adaptada de [19])

Embora a etiologia das DII não esteja totalmente esclarecida, pensa-se que a sua patogenicidade se deva a uma interação complexa entre fatores ambientais a que o indivíduo se encontra exposto, à sua predisposição genética e à resposta imune exacerbada do seu sistema imunológico. Às alterações na função e composição da microbiota intestinal – designadas disbioses – tem sido reconhecido um papel central na patogénese deste tipo de doenças²⁰⁻²².

Embora os quatro principais filos que dominam a microbiota intestinal de um adulto sejam Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria e Actinobacteria, estes dois últimos encontram-se em menor extensão nas DII e verifica-se uma redução da quantidade e variabilidade bacteriana intestinal. As bactérias que se encontram diminuídas desempenham principalmente funções protetoras e benéficas, como por exemplo a *Sutterella*, *Bifidobacterium* e *Roseburia*. Contrariamente, existe um aumento de bactérias prejudiciais à saúde humana, como é o caso do filo Proteobacteria, no qual se integra a espécie *Escherichia coli*¹⁸.

As disbioses nas doenças inflamatórias intestinais apresentam uma diminuição das espécies microbianas potencialmente protetoras e um aumento das espécies potencialmente inflamatórias. Estas alterações são mais extensas na DC do que na CU, existindo nesta última um aumento da presença de *Lactobacillus*, Firmicutes e Proteobacteria e de *Streptococcus* na DC¹⁸.

Na DC, os filos Firmicutes e Bacteroidetes encontram-se diminuídos, refletindo-se consequentemente numa redução da produção de SCFAs, como o butirato, que possui um potencial efeito protetor na colite e uma função anti-inflamatória, comprometendo a homeostase intestinal e imunitária^{20,22}. À medida que a doença se desenvolve, há um aumento de Actinobacteria e Proteobacteria e, por sua vez, de *E. coli*, potencialmente inflamatória. A capacidade de penetração na mucosa intestinal encontra-se também aumentada devido a uma maior abundância de bactérias mucolíticas, pertencentes ao género *Ruminococcus*. Porém, existe uma redução de espécies de *Clostridium* e *Bifidobacterium adolescentis*.

Ao serem utilizados modelos animais nos diversos estudos das doenças inflamatórias intestinais, verificam-se limitações na extrapolação dos resultados para os seres humanos. As respostas imunológicas são diferentes entre os seres humanos e murganhos, acrescentando o facto de que nos modelos animais não se consideram determinadas variáveis, como a exposição tabágica ou a medicação crónica. Apesar disso, e embora exista um elevado número de evidências experimentais que suportam a presença de estados de disbiose nas

DIIs, seja como consequência ou causa da inflamação intestinal, estas alterações da microbiota desempenham um papel relevante na homeostasia intestinal e na inflamação²⁰⁻²².

A microbiota intestinal encontra-se envolvida em diversas funções fisiológicas, contribuindo para a nutrição, defesa e desenvolvimento do sistema imunológico do hospedeiro²⁰. No fornecimento de nutrientes e energia ao organismo, a microbiota potencia a síntese de SCFAs e vitaminas (especialmente B e K), síntese esta que se encontra reduzida em situações de DIIs. Relativamente à defesa do hospedeiro, a microbiota propicia uma resistência à colonização por outras espécies e à produção de fatores anti-microbianos vários. Estudos comprovaram que modelos animais livres de microrganismos, designados de *germ-free* ou em condições *germ-free*, possuem uma maior suscetibilidade a infeções intestinais patogénicas^{22,23}.

No que diz respeito à maturação do sistema imunológico, esta está dependente da microbiota do hospedeiro e esta, por sua vez, interfere no seu desenvolvimento. A microbiota tem influência na produção de anticorpos tipo IgA, na modelação dos recetores dos linfócitos T, no reforço da função de barreira e na regulação dos linfócitos T *helper* (Th) – equilíbrio Th1/Th2, Th17 e Treg. Os linfócitos T reguladores (Treg) são um subtipo de linfócitos Th, envolvidos na regeneração dos tecidos, na prevenção da autoimunidade e na resposta mediada por IgA, a nível intestinal²⁰. Os linfócitos T CD4+ fazem parte dos linfócitos Treg e desempenham uma função relevante na supressão e regulação das outras células do sistema imunológico e, devido aos numerosos microrganismos comensais presentes a nível intestinal, torna-se fundamental evitar a estimulação excessiva do sistema imunológico, de forma a acautelar uma resposta inflamatória exacerbada, que pode levar a uma tolerabilidade do organismo a estas respostas²³.

Resumidamente, as disbioses, em situações de DIIs, passam por uma diminuição da diversidade da microbiota intestinal e, conseqüentemente, dos SCFAs produzidos e pelo aumento dos microrganismos mucolíticos e patogénicos. Estes efeitos refletem-se na diminuição da integridade da barreira intestinal e na maior permeabilidade da mucosa, com conseqüente aumento da invasão de microrganismos patogénicos²².

A predisposição genética encontra-se também relacionada com o desenvolvimento inicial das DIIs e está amplamente reconhecida, devido ao auxílio das novas técnicas de sequenciação genética e às extensas bases de dados criadas. Surgiram assim os *Genome-Wide Association Studies*, permitindo a identificação de inúmeros polimorfismos genéticos – *Single Nucleotide Polymorphisms* (SNPs) – associados à suscetibilidade a DII²³.

3.2. Depressão e Interconexão Microbioma-Intestino-Cérebro

A depressão tem origem multifatorial, desde fatores biológicos, a fatores psicológicos e sociais. É uma das maiores causas de incapacidade, afetando cada vez mais indivíduos a nível mundial, correspondendo o número de pessoas afetadas, atualmente, a cerca de 300 milhões, maioritariamente do sexo feminino e de faixas etárias mais velhas. O termo depressão é genérico para diversos distúrbios depressivos, como a doença bipolar, a depressão pós-parto, o transtorno afetivo sazonal e a depressão *major*, sendo esta última a forma mais grave de depressão²⁴⁻²⁶. O comportamento depressivo identifica-se através de indicadores como a variação de apetite e peso, sentimento de tristeza, alterações de humor, alterações do ritmo circadiano, retardação ou agitação psicomotora, dificuldade de concentração e pensamentos suicidas, sendo o suicídio a pior consequência da depressão e, como tal, um grave problema de saúde pública^{24,26}.

A terapêutica farmacológica tradicional tem como alvo o cérebro e o uso de antidepressivos. A iproniazida, surgida em 1958 e inicialmente usada em doentes com tuberculose, foi o fármaco pioneiro da primeira classe de antidepressivos – os inibidores da monoamina oxidase (iMAOs). Com o desenvolvimento dos iMAOs, surgiu a classe dos antidepressivos tricíclicos. Estes inibem a recaptação neuronal de serotonina, noradrenalina e dopamina, embora em menor quantidade, proporcionando o aumento dos seus níveis. Mais tarde, com a descoberta da influência da serotonina nos distúrbios depressivos surgiu a classe de fármacos antidepressivos mais utilizada atualmente – os inibidores da recaptação da serotonina (SSRIs)²⁴.

Contudo, cerca de 30% a 40% dos doentes não responde à medicação e, devido à heterogeneidade deste tipo de doentes, existe necessidade de se aplicar uma terapêutica adequada e personalizada a cada indivíduo, de forma a conseguir-se obter as respostas clínicas pretendidas. Para além disso, as elevadas taxas de resistência, que conduzem a uma eficácia limitada, em conjunto com o aparecimento demorado do efeito terapêutico são um obstáculo significativo ao tratamento²⁴. Os estudos dos últimos anos demonstram a existência de um eixo microbiota-intestino-cérebro, com comunicação bidirecional entre o cérebro e a microbiota intestinal, com influência em diversos distúrbios psicológicos, como é o caso da depressão²⁶. Apesar dos mecanismos envolventes serem complexos e não se encontrarem totalmente elucidados até ao momento, alterações no ecossistema intestinal podem desencadear outras a nível do sistema nervoso, assim como a nível das barreiras intestinal e hematoencefálica, conduzindo a um desequilíbrio deste eixo, que tem sido

associado ao desenvolvimento da depressão e poderá vir a ser o novo alvo terapêutico para o tratamento da depressão^{25,26}.

Segundo as evidências mais recentes, esta comunicação bidirecional ocorre através do nervo vago, dado ser o principal elemento do sistema nervoso parassimpático. A produção de metabolitos, como os SCFAs, os derivados do triptofano e os ácidos biliares secundários, por parte da microbiota intestinal podem estar envolvidos na regulação do cérebro²⁶. Ao entrarem na corrente sanguínea e serem capazes de atravessar a barreira hematoencefálica, ativam os mecanismos de sinalização do sistema nervoso central (SNC)^{25,26}. Embora ainda não esteja totalmente esclarecido se estes metabolitos se encontram em quantidade suficiente de forma a desencadear uma resposta do SNC do hospedeiro, sabe-se que a microbiota está envolvida na produção de moléculas hormonais neuroativas²⁶. Na direção inversa, o cérebro regula a microbiota intestinal. A composição da microbiota é alterada apenas com uma exposição de duas horas ao *stress*, existindo uma redução na proporção dos principais filos. As várias funções gastrointestinais, como a secreção de muco, a manutenção do fluido epitelial, a permeabilidade e motilidade intestinal e a resposta imunológica da mucosa, são reguladas pelo sistema nervoso autónomo e, por isso, todas estas funções, assim como a atividade e composição da microbiota, são afetadas quando o ser humano se encontra perante estados depressivos^{24,26}.

Os fatores ambientais, como a desregulação imunológica, o *stress* e também o uso de antibióticos, têm uma influência relevante no desenvolvimento desta patologia. A maioria dos resultados dos estudos pré-clínicos e clínicos, realizados em animais, sugerem a existência de uma influência da microbiota intestinal na função cerebral, particularmente na depressão *major*. Um dos estudos mais relevantes da área enfatizou o impacto dos microrganismos intestinais no eixo microbiota-intestino-cérebro, onde a contaminação acidental, de um abastecimento de água potável, por *Campylobacter jejuni* e *Escherichia coli*, resultou num aumento de sintomas de depressão e ansiedade nos indivíduos afetados^{24,26}.

3.2.1. O Nervo Vago

O nervo vago, o décimo (X) par de nervos cranianos, tem sido identificado como a principal via estabelecadora da comunicação entre o cérebro e o intestino, dado desempenhar um papel relevante na transmissão de sinais entre o cérebro e os órgãos que recebem inervação parassimpática. Por este motivo e através dos neurónios sensoriais aferentes, consegue coordenar várias funções parassimpáticas, como a respiração, resposta imunológica, humor, digestão e frequência cardíaca, assegurando a manutenção da

homeostase corporal. Também a homeostase intestinal é mantida através da transmissão da informação do microbioma intestinal ao SNC, por parte deste nervo. Em estados de disbiose, os microrganismos estimulam os neurónios sensoriais, ativando o nervo vago e o SNC desencadeia mecanismos anti-inflamatórios, de forma a repor o equilíbrio^{26,27}.

A diminuição da quantidade e diversidade da microbiota intestinal podem ser consequência de uma redução da atividade vagal existente em estados de depressão. As principais alterações ocorrem a nível dos quatro principais filos existentes na microbiota intestinal – Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria e Proteobacteria²⁷.

3.2.2. Via Neuroendócrina

A comunicação entre o cérebro e o intestino pode também ser feita de forma indireta através do sistema neuroendócrino. No epitélio intestinal, existem mais de 20 tipos de células enteroendócrinas que são estimuladas quando os metabolitos produzidos pela microbiota entram em contacto com estas, cuja resposta resulta na produção de hormonas intestinais e péptidos endócrinos, como a oxitocina, substância P, neuropeptídeo Y e grelina, entre outros, que podem atuar por duas vias díspares – localmente ou através da circulação sistémica^{26,28}.

Por estar envolvido na resposta do sistema neuroendócrino perante situações de *stress*, o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal desempenha um papel relevante na regulação do humor. Os níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias e estados de *stress* desencadeiam a secreção da hormona libertadora de corticotrofina, por parte do hipotálamo, levando à ativação deste eixo^{26,27}. Esta hormona ainda estimula a libertação, por parte da hipófise, da hormona adenocorticotrófica, provocando a libertação de cortisol das glândulas supra-renais. Os doentes com depressão *major* têm alterações neste eixo e apresentam níveis de cortisol elevados, sendo este considerado a hormona do *stress*. O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é essencial na regulação de distúrbios de humor e aprendizagem, pelo que os seus níveis se encontram diminuídos perante sintomas de depressão e ansiedade^{26,28}.

Também a microbiota intestinal afeta o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal e, desta forma, a resposta do organismo quando exposto a situações de *stress*, através da regulação da secreção de neurotransmissores. De um modo inverso, este eixo e a exposição ao *stress* podem afetar a composição da microbiota intestinal. Assim, este tipo de situações pode-se espelhar numa alteração de ambas as partes²⁶⁻²⁸.

3.2.3. Barreira Intestinal e Barreira Hematoencefálica

O sistema de barreira desempenha uma função essencial na regulação da sinalização do eixo microbiota-intestino-cérebro. Neste eixo, estão envolvidas duas barreiras – a barreira hematoencefálica e a barreira intestinal – em que, fatores como o *stress*, antibióticos, infecções e o tipo de dieta têm influência na sua permeabilidade, podendo causar distúrbios nestas²⁷.

A barreira intestinal é constituída por uma camada mucosa, variante em espessura e composição, e uma monocamada basal cujas células epiteliais se encontram interligadas por *tight junctions*. A camada mucosa é uma barreira protetora isenta de microrganismos. Quando são detetados determinados produtos bacterianos, provenientes de agentes patogénicos, esta ativa os seus mecanismos antimicrobianos de defesa e inflamação intestinal, fazendo com que seja alterada a permeabilidade da barreira intestinal²⁵. Esta permeabilidade aumenta em condições de *stress*, infecções e durante a toma de antibióticos, promovendo a passagem de citocinas para a circulação sanguínea, que irão ativar os TLRs e conduzir, por sua vez, à produção de citocinas pró-inflamatórias^{26,29}.

A barreira hematoencefálica regula a circulação de moléculas entre o sistema circulatório e o líquido cefalorraquidiano. Os fatores inflamatórios, produzidos quando existe ativação do sistema imunológico, podem levar a um aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica e, conseqüentemente, originar estados de neuroinflamação e depressão. Contudo, estudos demonstram que esta permeabilidade pode ser alterada por parte dos metabolitos produzidos pela microbiota intestinal. Os SCFAs, por exemplo, são responsáveis pela redução da permeabilidade desta barreira, devido ao aumento da expressão das proteínas *tight junctions*^{26,29}.

3.3. Cancro Colo-Retal

O cancro é uma doença multifatorial, que resulta de modificações na proliferação, diferenciação e/ou morte celular por parte de fatores ambientais, genéticos, epigenéticos e estilos de vida. Cerca de 20% da carcinogénese envolve microrganismos, que se encontram envolvidos na regulação do sistema imunológico, na resposta metabólica a fatores externos (como os fármacos ou a dieta) e internos (com origem no próprio hospedeiro) e ainda na regulação do equilíbrio entre a morte e a proliferação celular, desempenhando, por isso, um papel na inibição ou promoção da carcinogénese³⁰.

A relação entre o cancro e a microbiota intestinal tem sido motivo de estudo nos últimos anos, surgindo a hipótese de serem desenvolvidas terapêuticas anticancerígenas com base no uso de microrganismos, dado que, podem afetar as respostas à radioterapia, imunoterapia e quimioterapia. Apesar da relação entre a microbiota intestinal e o hospedeiro ser simbiótica, nem sempre se verificam benefícios para o hospedeiro. Em situações de disbiose, as defesas do organismo podem encontrar-se afetadas, propiciando a colonização por outros microrganismos com potencial patogénico – os designados organismos patobiontes – com possibilidade de induzirem um processo cancerígeno, quando se verifiquem alterações ambientais ou genéticas no hospedeiro, gerando-se assim uma resposta imunológica anómala^{30,31}.

Perante estados de disbiose, as interações entre a microbiota e as células epiteliais sofrem alterações, refletindo-se em desregulações na homeostase celular e nas barreiras protetoras, como a desregulação dos mecanismos de proliferação e morte celular, que contribuem para o desenvolvimento do processo cancerígeno, uma vez que a capacidade de recuperação da microbiota fica alterada, conduzindo a uma quebra persistente da barreira, que se vai refletindo numa falha na restauração da homeostase³⁰.

Ao longo do trato gastrointestinal, o colon é a porção que apresenta uma maior densidade de bactérias e, por isso, a maioria dos estudos foca-se na microbiota intestinal. Os estudos têm demonstrado evidências na correlação desta com diversas patologias gastrointestinais, especialmente com o cancro colo-retal (CCR)³¹. Neste tipo de cancro, verifica-se um aumento dos níveis de *Helicobacter*, *Pseudomonas* e *Acinetobacter* e uma redução dos níveis de *Lachnospiraceae* spp. e *Ruminococcaceae* (bactérias produtoras de butirato). As espécies *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum*, entre outras, encontram-se associadas à transformação neoplásica maligna do adenoma colo-retal para CCR³⁰. Este cancro desenvolve-se, de uma forma demorada, ao longo dos anos, sofrendo influência das bactérias, referidas em último, e início em lesões precursoras. A

prevenção desta patologia passa pelo diagnóstico precoce da disbiose intestinal, que muitas das vezes se traduz num aumento ou redução dos níveis das bactérias referidas. Tal deteção poderá contribuir para prevenir o desenvolvimento da doença, modelar a resposta ao tratamento antineoplásico e a sua suscetibilidade a efeitos secundários, conseguindo-se assim uma abordagem promissora³⁰.

3.3.1. Influência do Microbioma Intestinal Humano no Tratamento do Cancro Colo-Retal

A capacidade da microbiota intestinal modelar a imunoterapia, radioterapia e quimioterapia tem sido evidente nos diversos estudos realizados. Para além de esta modelar a resposta à terapêutica, influencia também a suscetibilidade a efeitos adversos. Deste modo, melhorar a eficácia da terapêutica antineoplásica e evitar a sua toxicidade, pode passar por encaminhar a microbiota neste sentido, com foco nas espécies envolvidas nestes processos^{30,31,32}.

3.3.1.1. Quimioterapia

A microbiota intestinal está envolvida na farmacocinética farmacológica, uma vez que auxilia no metabolismo de fármacos através da regulação da biodisponibilidade e absorção dos metabolitos destes. Por outro lado, estas substâncias químicas não produzidas no organismo humano – os designados xenobióticos – possuem a capacidade de modelar a composição microbiana intestinal³².

A quimioterapia consiste no uso de fármacos citostáticos, que exercem a sua atividade a nível da replicação do ácido desoxirribonucleico (ADN), embora possam afetar também outros componentes, sobretudo a mitocôndria (especialmente no uso de metais pesados). A classificação destes baseia-se nos seus mecanismos de ação: antimetabolitos, agentes alquilantes, inibidores da topoisomerase, metais pesados, antibióticos antineoplásicos e inibidores mitóticos. A eficácia destes fármacos é influenciada pela microbiota intestinal do indivíduo e são também responsáveis por alterações na microbiota intestinal^{31,32}.

3.3.1.1.1. Inibidores da Topoisomerase

O irinotecan, muito usado no tratamento do cancro colo-retal, é um fármaco inibidor da topoisomerase I, que bloqueia a replicação do ADN de células que se encontrem em divisão rápida. O metabolito do irinotecan é eliminado na forma inativa, mas a presença

de β -glucuronidases nas bactérias intestinais torna-o metabolito de novo ativo, através da clivagem de uma porção, originando um aumento da concentração deste no intestino³².

A sua capacidade de alterar a microbiota intestinal deve-se ao facto de provocar um aumento de bactérias intestinais, portadoras de β -glucuronidases, como é o caso de *Clostridium* spp., *Staphylococcus* spp. e *Escherichia coli*. Tal provoca diarreia, um efeito adverso que diminui a eficácia da terapêutica. Contudo, para reverter este efeito, o recurso a uma suplementação com um probiótico composto por *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. e *Streptococcus thermophilus* é uma solução, dado reduzirem a atividade das β -glucuronidases³³.

É de realçar a capacidade que o próprio fármaco tem de alterar a composição da microbiota intestinal e a influência que esta exerce na metabolização do irinotecan. Uma forma de regular a resposta do organismo à terapêutica é através da modelação do microbioma³³.

3.3.1.1.2. Agentes Alquilantes

De modo a impedir a formação da dupla hélice característica da molécula de ADN e a ligação das duas cadeias, os agentes alquilantes adicionam um grupo alquilo à base nucleotídica guanina. A molécula de ADN é afetada, impedindo a mitose da célula cancerígena, mas providenciando a morte celular³².

A ciclofosfamida é um exemplo de um agente alquilante, que diminui os níveis de várias bactérias intestinais. É ainda responsável pela perda da integridade da barreira intestinal e migração das bactérias. A migração de bactérias provocada pela ciclofosfamida, como *Lactobacillus* spp., desencadeia a ativação das células dendríticas e, por sua vez, um aumento dos linfócitos Th17, linfócitos T CD8+ e linfócitos Th1 e diminuição dos linfócitos Treg, refletindo-se numa resposta imune adaptativa antitumoral³².

Uma menor eficácia da ciclofosfamida e diminuição dos linfócitos Th17 foi registado em murganhos *germ-free*, evidenciando que, a eficácia da terapêutica antineoplásica com este fármaco e a resposta imunitária estão dependentes da microbiota intestinal do indivíduo. Porém, a suplementação oral de murganhos *germ-free* com *Enterococcus hirae* e *Lactobacillus johnsonii* restabeleceu o efeito antitumoral da ciclofosfamida³².

3.3.1.1.3. Compostos à Base de Platina

Esta classe de fármacos antineoplásicos é constituída essencialmente por compostos à base de platina, como a oxaliplatina e cisplatina, que ao interagirem com a molécula de ADN, formando um aduto de platina ligada à cadeia de ADN, promovem a apoptose das

células cancerígenas. Os compostos de platina estão envolvidos na produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS), que conduzem à morte das células cancerígenas^{32,34}.

Em murganhos *germ-free*, concluiu-se que o efeito antineoplásico destas substâncias ativas diminui de forma significativa. Contudo, quando administradas com probióticos compostos por *Lactobacillus* spp., há uma diminuição do tamanho do tumor, promovendo esta espécie a atividade antineoplásica destes fármacos³⁴.

3.3.1.2. Radioterapia

A radioterapia é bastante utilizada nos tumores localizados, resultando o efeito da radiação terapêutica ionizada (RTX), na ativação de respostas imunossupressoras, imunoestimulantes e morte celular das células cancerígenas afetadas pela radiação de elevada energia. Existem dois tipos de tratamento radioterapêutico: a radioterapia de feixe externo, em que a radiação é emitida por um emissor para o local do tumor, e a radioterapia de radiação interna, em que é depositado, na área a ser tratada, material radioativo^{32,33}.

Este tipo de tratamento é genotóxico e, por isso, origina danos celulares diretos, que interferem com a molécula de ADN, ou, de uma forma indireta, através da síntese de radicais livres, conduzindo ambos à morte celular (Figura 4)³⁵. Todavia, a radiação pode atingir células saudáveis e cancerígenas, apesar de nas primeiras atuar um mecanismo de reparação que não ocorre nas últimas^{32,35}.

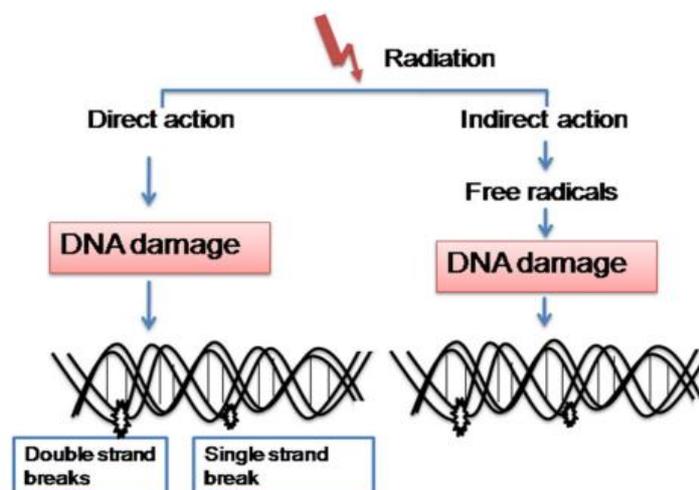


Figura 4 – A radiação terapêutica ionizada (RTX) atua de duas formas: De forma direta, originando lesões na molécula de ADN. De forma indireta, através da sua capacidade de produção de radicais livres, que conduzem à morte celular. (Adaptada de [35])

A microbiota intestinal sofre alterações na sua composição perante tratamentos de radioterapia, espelhando-se estas principalmente em diarreia, colites e mucosites e existindo um aumento de *Proteobacteria* spp.. Este tipo de bactérias é responsável pela alteração da barreira intestinal e aumento da inflamação da mucosa intestinal, comprometendo a resposta imunológica³⁵.

Os efeitos indesejados, especialmente a diarreia, podem ser atenuados com o uso de probióticos que contenham *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* e *Bifidobacterium bifidum*. Porém, para esclarecer com mais detalhe a influência da microbiota, nas células irradiadas e não irradiadas, na toxicidade e eficácia da radioterapia, são necessários mais estudos. Só assim será conseguido um aumento da eficácia desta terapêutica com redução dos efeitos secundários³².

3.3.1.3. Imunoterapia

A imunoterapia é uma abordagem terapêutica mais recente com efeitos promissores no tratamento do cancro, devido à existência de menores efeitos adversos e recidivas, comparativamente com a quimioterapia e radioterapia. No entanto, a heterogeneidade tumoral traduz-se numa variabilidade da resposta imunitária do organismo do doente e da eficácia desta terapêutica³².

Na imunoterapia, a ação do sistema imunológico contra as células cancerígenas é estimulada. Este método baseia-se maioritariamente nos linfócitos T, dado induzirem o efeito antitumoral, e são vários os tipos de imunoterapia³³. O tratamento com base nos inibidores *checkpoint* são um exemplo e a suspeita-se que a sua eficácia terapêutica esteja dependente da microbiota intestinal do doente, dado a sua forte interação com o sistema imunológico do hospedeiro, podendo justificar a variabilidade atendida nas respostas clínicas^{32,33}.

Estudos diversos têm demonstrado que, através da modelação da microbiota intestinal, a eficácia da imunoterapia é promovida e existe uma melhoria nos resultados clínicos perante a presença de determinadas bactérias na microbiota³². A estirpe *Bifidobacterium* está associada a uma redução do tamanho do tumor e a uma resposta antitumoral melhorada, uma vez que esta estirpe contribui para uma resposta melhor dos linfócitos T CD8⁺³².

4. Manipulação da Microbiota Intestinal Humana como Estratégia Terapêutica

Alguns medicamentos, especialmente os antibióticos, propiciam disbioses intestinais. No entanto, probióticos e prebióticos possuem a capacidade de interferir na eficácia de determinadas terapêuticas medicamentosas, através do seu auxílio na manutenção da microbiota intestinal. O microbioma intestinal pode também interagir com os fármacos, alterando o modo de percepção destes por parte do organismo^{13,15,37,38}. Deste modo, na microbiota intestinal, têm sido identificadas contribuições relevantes para a saúde humana, surgindo como um potencial alvo terapêutico³⁸.

4.1. Prebióticos e Probióticos

O maior desafio das investigações realizadas até ao momento é o *design* de uma terapêutica baseada no microbioma de cada indivíduo. A maioria das terapêuticas direcionadas à microbiota intestinal foca-se na modelação da composição microbiana intestinal, recorrendo ao uso de prebióticos e probióticos³⁸.

Os prebióticos são polissacarídeos fermentáveis não digeríveis, que funcionam como substrato dos probióticos, sendo a lactulose, a inulina e os fruto- e galacto-oligosacarídeos exemplos destes. Estimulam a atividade e o crescimento seletivo de espécies bacterianas existentes no organismo, como *Bifidobacterium*. Em situações em que o crescimento de populações de *Bifidobacterium* é promovido, a função da barreira intestinal é melhorada. Os metabolitos derivados dos microrganismos intestinais, como os SCFAs (acetato, propionato, butirato e lactato), são fonte de energia para as células epiteliais do cólon, conduzindo a uma supressão do desenvolvimento do cancro neste local, quando perante eventual situação. O butirato desempenha também um efeito supressor do desenvolvimento tumoral, através da sua ação na inibição da proliferação celular e indução da apoptose. Deste modo, o consumo de prebióticos poderá ser promissor na alteração da abordagem terapêutica, sobretudo do cancro colo-retal^{26,38,39}.

Os probióticos têm na sua composição bactérias existentes no organismo humano, cujos efeitos são benéficos para o ser humano. Estes possuem a capacidade de estabilizar a comunidade microbiana, melhorar a integridade da função de barreira e da mucosa intestinal e inibir a adesão dos microrganismos patogénicos à mucosa intestinal. Os probióticos comumente usados pertencem aos géneros *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus*. O equilíbrio na proporção de microrganismos é característico de estados

fisiológicos, funcionando como um indicador do estado de saúde do indivíduo. Em situações de disbiose, estas proporções encontram-se alteradas e a estratégia de restituição do estado fisiológico passa por repor os níveis do microrganismo em menor abundância, potenciando a resposta imunológica do organismo. Por exemplo, em casos de cancro colo-retal, a proporção de *Escherichia* e *Bifidobacterium* encontra-se alterada, existindo a primeira espécie em maior quantidade. Diversos estudos demonstraram que a administração de probióticos à base de *Bifidobacterium* restabeleceram a resposta imunitária contra tumores e que animais *germ-free* toleram menores quantidades de Irinotecan, concluindo-se que a microbiota intestinal desempenha um papel relevante na prevenção e tratamento do processo carcinogénico. Para além disso, a nível da imunoterapia, possui a capacidade de aumentar a eficácia dos inibidores *checkpoint* e o número dos linfócitos T CD8+. A microbiota intestinal poderá então constituir um alvo terapêutico quer na diminuição dos efeitos indesejáveis da terapia medicamentosa, quer na maior eficácia dos fármacos utilizados no tratamento^{26,37-39}.

No entanto, o uso de prebióticos e probióticos é uma abordagem terapêutica ainda pouco específica, sendo necessário mais estudos, nomeadamente para caracterizar os efeitos dos prebióticos nas diferentes espécies bacterianas³⁸.

4.2. Posbióticos

Os metabolitos produzidos por parte da microbiota intestinal possuem a capacidade de modelar as funções fisiológicas do hospedeiro. Estas moléculas, designadas de posbióticos, intervêm na comunicação entre microrganismos e microrganismo-hospedeiro e, em situações de disbiose, os níveis dos diversos metabolitos podem encontrar-se alterados, emergindo a necessidade da normalização dos níveis destes metabolitos de forma a restabelecer a condição fisiológica do hospedeiro. Como tal, os posbióticos surgem enquanto potencial estratégia terapêutica no tratamento de disbioses intestinais e alternativa ao uso de probióticos³⁸.

Os ácidos gordos de cadeia curta são os metabolitos mais estudados neste sentido e demonstram exercer vários efeitos na fisiologia humana, nomeadamente a nível da integridade intestinal e da função imunológica. Para além do mais, têm um efeito anti-inflamatório, uma baixa toxicidade e, de um modo geral, são estáveis na circulação sanguínea, sendo, por isso, de fácil modelação e administração (oral ou sistémica). Todavia, uma desvantagem desta terapêutica consiste no curto tempo de semi-vida destes metabolitos, podendo ser necessário a administração de várias doses para o tratamento da disbiose, sendo fundamental a realização de mais estudos neste sentido³⁸.

Para além do referido anteriormente, os metabolitos intestinais conseguem funcionar como indicadores da atividade da microbiota intestinal, dado atuarem como moléculas sinalizadoras e, por isso, espelharem a comunicação entre microrganismos e microrganismo-hospedeiro. O aumento ou diminuição dos níveis de determinados metabolitos podem indicar uma atividade metabólica intestinal alterada, permitindo, por sua vez, detetar precocemente uma disbiose. Apenas os metabolitos que são unicamente produzidos pela microbiota, e que não conseguem ser sintetizados pelo hospedeiro, permitem detetar disbioses. Por exemplo, o organismo humano não consegue digerir polissacarídeos de origem vegetal. Os microrganismos intestinais conseguem fazê-lo metabolizando-os em SCFAs, que são detetados e utilizados pelo organismo nas respostas imunológicas³⁸.

Este tipo de terapêutica é altamente promissora, sendo o passo seguinte, da investigação nesta área, definir as principais alterações a nível dos metabolitos específicas de cada disbiose.

4.3. Dieta

A microbiota intestinal auxilia na digestão alimentar, digerindo nutrientes que o organismo do hospedeiro é incapaz de metabolizar. Todavia, o tipo de alimentação de cada indivíduo contribui para uma composição microbiana diferente. As mudanças drásticas e intensivas no regime alimentar do ser humano contribuem consideravelmente para que se observem alterações da microbiota, num curto período de tempo^{22,39}.

A dieta rica em fibra tem vindo a demonstrar uma influência significativa na composição do microbioma intestinal, verificando-se um aumento de SCFAs, especialmente do butirato, que, por se encontrarem em elevada quantidade, entram na corrente sanguínea, exercendo um efeito imunomodulador^{22,38}. A suplementação da dieta com prebióticos à base de inulina, contribui para o aumento dos níveis de *Bifidobacterium* e *Faecalibacterium*. A eliminação ou redução do consumo de gorduras animais espelha-se num aumento do filo Bacteroidetes^{26,39}.

A manipulação da microbiota através do regime alimentar constitui uma estratégia para a melhoria da eficácia terapêutica, sobretudo na terapêutica antineoplásica, no tratamento das doenças inflamatórias intestinais e distúrbios psicológicos, uma vez que a composição microbiana intestinal é enriquecida e o sistema imunológico estimulado^{26,37,38}. É ainda de realçar, que uma dieta rica em fibra diminui a incidência de outras patologias, como doenças cardiovasculares, obesidade, doenças respiratórias e infeções, promovendo uma melhor qualidade de vida⁴⁰.

4.4. Transplante da Microbiota Fecal

O transplante da microbiota fecal (TMF) envolve a transferência completa das comunidades microbianas de um dador saudável para um indivíduo doente, cuja microbiota intestinal se encontra alterada, restabelecendo-se o equilíbrio de microrganismos intestinais e aumentando deste modo a eficácia da terapêutica⁴¹. O processo do TFM inicia-se com a colheita de fezes do dador. De seguida, é adicionada uma solução salina, filtrando-se posteriormente. A administração da microbiota poderá ser feita de duas formas: via endoscopia ou por via oral, recorrendo a cápsulas contendo os microrganismos (Figura 5)⁴¹.

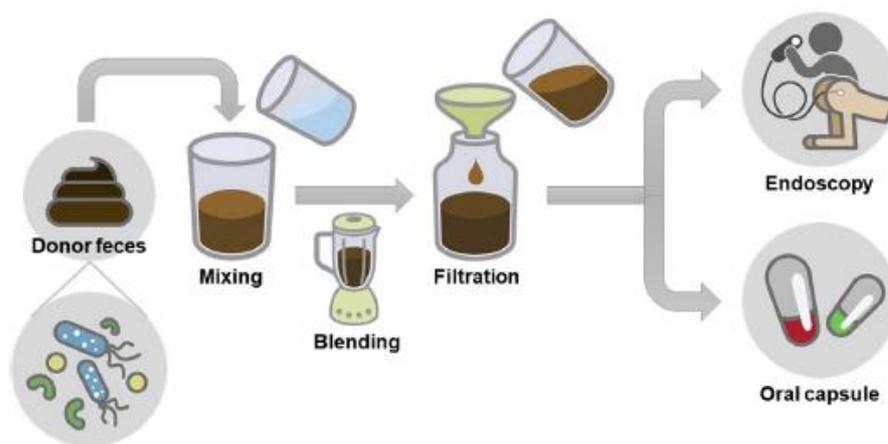


Figura 5 – Processo do transplante da microbiota fecal. (Adaptada de [41])

É um método utilizado, principalmente, no tratamento de infeções por *Clostridium difficile*, e, mais recentemente, na doença de Chron e na colite ulcerosa⁴¹. Atualmente, está a ser investigada a sua aplicação enquanto adjuvante na terapêutica antineoplásica e de distúrbios mentais. Em patologias como o cancro, o equilíbrio da microbiota intestinal sugere uma redução no aparecimento de tumores⁴¹.

Conclusão e Perspetivas Futuras

Ao longo das últimas décadas, registaram-se progressos científicos notáveis no âmbito da relevância do microbioma intestinal na saúde e na doença humana, especialmente na sua influência em patologias como as doenças inflamatórias intestinais, depressão e cancro colo-retal. Todavia, trata-se de um tema que começou a ser explorado de uma forma exaustiva recentemente, sendo ainda necessários estudos mais elucidativos.

Através das tecnologias de sequenciação existentes nos dias de hoje, conseguiu-se identificar os microrganismos presentes no organismo humano, estimando-se as funções e a diversidade da microbiota intestinal. Apesar de se terem observado semelhanças e diferenças entre as diversas microbiotas intestinais humanas, procura-se definir, qualitativa e quantitativamente, um estado microbiano saudável. Este é o passo crítico na descoberta de como é que as variações e alterações no microbioma intestinal podem contribuir para o surgimento de determinadas patologias.

Embora muitas das investigações realizadas até agora tenham sido conclusivas, são realizadas maioritariamente em animais e predomina a questão da transposição dos resultados obtidos para a escala humana, dado que alguns fatores e mecanismos fisiológicos são distintos entre ambos. Neste sentido, são ainda necessários mais estudos, de forma a conhecer pormenorizadamente o microbioma intestinal de cada indivíduo para que se possam tirar conclusões relativamente à implementação de uma terapêutica de sucesso, uma vez que é a microbiota intestinal a que maior influência tem na saúde do ser humano. No entanto, a manipulação da microbiota intestinal já foi demonstrada, através da introdução de microrganismos benéficos ou remoção de microrganismos prejudiciais para a saúde humana e terapêutica farmacológica. A dieta é também um fator com considerável influência na microbiota intestinal e a modelação desta pode ser também conseguida através de alterações nos hábitos alimentares.

Em suma, a microbiota intestinal pode constituir futuramente um alvo para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas adaptadas ao microbioma de cada indivíduo e ainda na redução dos efeitos secundários das terapêuticas farmacológicas, nomeadamente das aplicadas às patologias abordadas.

Referências Bibliográficas

1. WU, GARY D., LEWIS, JAMES D. – **Analysis of the Human Gut Microbiome and Association With Disease.** *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 11 (2013), 1-7.
2. NELSON, M. H, DIVEN., M. A., HUFF, L. W., PAULOS, C. M. – **Harnessing the Microbiome to Enhance Cancer Immunotherapy.** *Journal of Immunology Research.* 2015 (2015), 1-12.
3. PARFREY, L. W., KNIGHT, R. – **Spatial and Temporal Variability of the Human Microbioma** - *Clinical Microbiology and Infection.* 18 (2012). 5-7.
4. CHANG, P. V. – **Chemical Mechanisms of Colonization Resistance by the Gut Microbial Metabolome.** *ACS Chemical Biology.* 2020 (2020), 1-8.
5. URSELL, L. K., CLEMENTE, J. C., RIDEOUT, J. R., GEVERS, D., CAPORASO, J. G., KNIGHT, R. – **The Interpersonal and Intrapersonal Diversity of Human-associated Microbioma in Key Body Sites.** *American Academy of Allergy, Asthma & Immunology.* 5, 129 (2012), 1204-1208.
6. **Human Microbiome Project (HMP).** [Acedido a 25 de março de 2020] Disponível em: <https://www.hmpdacc.org/hmp/>
7. BELIZÁRIO, J. E., NAPOLITANO, M. – **Human Microbiomes and Their Roles in Dysbiosis, Common Diseases, and Novel Therapeutic Approaches.** *Frontiers in Microbiology.* 6:10 (2015), 1-16.
8. OSADCHIY, V., MARTIN, C. R., MAYER, E. A. – **The Gut-Brain Axis and the Microbiome: Mechanisms and Clinical Implications.** *Clinical Gastroenterology and Hepatology.* 17 (2019), 322-332.
9. DINAN, T. G., CRYAN, J. F. – **The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease.** *Gastroenterology Clinics of North America.* 46 (2017), 77-89.
10. TU, P., CHI, L., BODNAR, W., ZHANG, Z., GAO, B., BIAN, X., STEWART, J., FRY, R., LU, K. – **Gut Microbiome Toxicity: Connecting the Environment and Gut Microbiome-Associated Diseases.** *Toxics.* 8:19 (2020), 1-18.

11. GONG, L., WEN, T., WANG, J. – **Role of The Microbiome in Mediating Health Effects of Dietary Components.** Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2020 (2020), 1-16.
12. CHO, I., BLASER, M. J. – **The Human Microbiome: at the Interface of Health and Disease.** Nature Reviews Genetics. 13 (2012), 260-270.
13. BLASER, M. – **The Microbiome Revolution.** The Journal of Clinical Investigation. 124 (2014), 4162-4165.
14. FASANO, A. – **All Disease Begins in the (leaky) Gut: Role of Zonulin-mediated Gut Permeability in the Pathogenesis of Some Chronic Inflammatory Diseases.** F1000 Research. 9:69 (2020), 1-13.
15. CIEMENTE, J. C., URSELL, L. K., PARFREY, L. W., KNIGHT, R. – **The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View.** Cell. 6:148 (2012), 1258-1270.
16. SHREINER A. B., KAO, J. Y., YOUNG V. B. – **The Gut Microbiome in Health and in Disease.** National Institute of Health. 1:31 (2015), 69-75.
17. QUIGLEY E. M. M., GAJULA, P. – **Recent Advances in Modulating the Microbiome.** F1000 Research. 9:46 (2020), 1-12.
18. RODRÍGUEZ, C., ROMERO, E., GARRIDO-SANCHEZ, L., ALCAÍN-MARTÍNEZ, G., ANDRADE, R. J., TAMINIAU, B., DAUBE, G., GARCÍA-FUENTES, E. – **Microbiota Insights in *Clostridium difficile* Infection and Inflammatory Bowel Disease.** Gut Microbes. 4 (2020), 1-26.
19. RYAN, F. J., AHERN, A. M., FITZGERALD, R. S., LASERNA-MENDIETA, E. J., POWER, E. M., CLOONEY, A. G., O'DONOGHUE, K. W., MCMURDIE, P. J., IWAI, S., CRITS-CHRISTOPH, A., SHEEHAN, MORAN, C., FLEMER, B., ZOMER, A. L., FANNING, A., O'CALLAGHAN, J., WALTON, J., TEMKO, A., STACK, W., JACKSON, L., JOYCE, S. A., MELGAR, S., DESANTIS, T. Z., BELL, J. T., SHANABAN, F., CLAEISSON, M. J. – **Colonic Microbiota is Associated with Inflammation and Host Epigenomic Alterations in Inflammatory Bowel Disease.** Nature Communications. 11:1512 (2020), 1-12.

20. BERNSTEIN, C., FORBES, J. – **Gut Microbiome in Inflammatory Bowel Disease and Other Chronic Immune-Mediated Inflammatory Diseases.** *Inflammatory Intestinal Diseases.* 2 (2017), 116-123.
21. LEE, D., ALBENBERG, L., COMPHER, C., BALDASSANO, R., PICCOLI, D., LEWIS, J., WU, G. – **Diet in the Pathogenesis and Treatment of Inflammatory Bowel Diseases.** *Gastroenterology.* 6 (2015), 1087-1106.
22. NISHIDA A., INOUE, R., INATOMI, O., BAMBIA, S., NAITO, Y. ANDOH, A. – **Gut Microbiota in the Patogenesis of Inflammatory Bowel Disease.** *Clinical Journal of Gastroenterology.* 11 (2018), 1-10.
23. 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.
24. MACEDO, D., FILHO, A. J. M. C., SOARES DE SOUSA, C. N., QUEVEDO, J., BARICHELO, T., JÚNIOR, H. V. N., FREITAS DE LUCENA, D. – **Antidepressants, Antimicrobials or Both? Gut Microbiota Dysbiosis in Depression and Possible Implications of the Antimicrobial Effects of Antidepressant Drugs for Antidepressant Effectiveness.** *Journal of Affective Disorders.* 208 (2017), 22-32.
25. BARANDOUZI, Z., ANGELA, S., HENDERSON, W., GYAMFI, A., CONG, X. – **Altered Composition of Gut Microbiota in Depression: A Systematic Review.** *Frontiers in Psychiatry.* 11:541 (2020), 1-10.
26. LONG-SMITH, C., RIORDAN, K., CLARKE, G., STANTON, C., DINAN, T., CRYAN, J. – **Microbiota-Gut-Brain Axis: New Therapeutic Opportunities.** *Annual Review of Pharmacology and Toxicology.* 60 (2020), 477-502.
27. BREIT, S., KUPFERBERG, A., ROGLER, G., HASLER, G. – **Vagus Nerve as Modulator of the Brain-gut Axis in Psychiatric and Inflammatory Disorders.** *Frontiers in Psychiatry.* 9:44 (2018), 1-15.
28. LACH, G., SCHELLEKENS, H., DINAN, T. G., CRYAN, J. F. – **Anxiety, Depression, and the Microbiome: A Role for Gut Peptides.** *Neurotherapeutics.* 15 (2018) 36-59.

29. OSADCHIY, V., MARTIN, C., MAYER, E. – **The Gut-Brain Axis and the Microbiome: Mechanisms and Clinical Implications.** *Science Direct.* 17 (2019), 322-332.
30. CHEN, Y., YANG, Y., GU, J. – **Clinical Implications of the Associations Between Intestinal Microbiome and Colorectal Cancer Progression.** *Cancer Management and Research.* 12 (2020), 4117-4128.
31. VIGNESWARAN, J., SHOGAN, B., D. – **The Role of the Intestinal Microbiome on Colorectal Cancer Pathogenesis and Its Recurrence Following Surgery.** *Journal of Gastrointestinal Surgery.* (2020) <https://doi.org/10.1007/s11605-020-04694-4>.
32. ROY, S., TRINCHERI, G. – **Microbiota: A Key Orchestrator of Cancer Therapy.** *Nature Reviews Cancer.* 17 (2017), 271-285.
33. SINGH, R., BASHIR, H., KUMAR, R. – **Emerging Role of Microbiota in Immunomodulation and Cancer Immunotherapy.** *Seminars in Cancer Biology.* (2020) <https://doi.org/10.1016/j.semcan.2020.06.008>
34. MEGO, M., CHOVANEC, J., KONKOLOVSKY, P., MIKULOVÁ, M., RECKOVA, M., MISKOVSKA, V., BYSTRICKY, B., BENIAK, J., MEDVECPVA, L., LAGIN, A., SVETLOVSKA, D., SPANIK, S., ZAJAC, V., MARDIAK, J. – **Prevention of Irinotecan Induced Diarrhea by Probiotics: A Randomized Double Blind, Placebo Controlled Pilot Study.** *Complementary Therapies in Medicine.* 23:3 (2015), 356-362.
35. BASHIARDES, S., TUNGANBAEV, T., FEDERICI, S., ELINAV, E. – **The Microbiome in Anti-Cancer Therapy.** *Seminars in Immunology.* 32 (2017), 74-81.
36. BASKAR, R., DAI, J., WENLONG, N., YEO, R., YEOH, K – **Biological Response of Cancer Cells to Radiation Treatment.** *Frontiers in Molecular Biosciences.* 1:24 (2014), 1-9.
37. TANOUE, T., MORITA, S., PLICHTA, D., SKELLY, A., SUDA, W., SUGIURA, Y., NARUSHIMA, S., VLAMAKIS, H., MOTOO, I., SUGITA, K., SHIOTA, A., TAKESHITA, K., YASUMA-MITOBÉ, K., RIETHMACHER, D., KAISHO, T., NORMAN, J., MUCIDA, D., SUEMATSU, M., YAGUCHI, T., BUCCI, V., INOUE, T., KAWAKAMI, Y., OLLE, B., ROBERTS, B., HATTORI, M., XAVIER, R., ATARASHI, K.,

- HONDA, K. – **A Defined Commensal Consortium Elicits CD8 T Cells and Anti-Cancer Immunity.** *Nature.* 565 (2019), 600-605.
38. WONG, A., LEVY, M. - **New Approaches to Microbiome-Based Therapies.** *mSystems.* 4 (2019), 119-122.
39. GOPALAKRISHMAN, V., HELMINK, B., SPENCER, C., REUBEN, A., WARGO, J. – **The Influence of the Gut Microbiome on Cancer, Immunity and Cancer Immunotherapy.** *Cancer Cell.* 4 (2018), 570-580.
40. WILSON, A., KOLLER, K., RAMBOLI, M., NESENGANI, L., OCVIRK, S., CHEN, C., FLANAGAN, C., SAP, F., MERRITT, Z., BHATTI, F., THOMAS, T., O'KEEFE, S. – **Diet and the Human Gut Microbiome: An International Review.** *Digestive Diseases and Sciences.* 65 (2020), 723-740.
41. WANG, J., KUO, C., KUO, F., WANG, Y., HSU, W., YU, F., HU, H., HSU, P., WANG, J., WU, D. – **Fecal Microbiota Transplantation: Review and Update.** *Journal of the Formosan Medical Association.* 118 (2019), 23-31.