



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Rita Correia Centeio

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Papel da Microbiota Intestinal nas Perturbações do Espectro do Autismo”, referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, da Dra. Catarina Silva, da Dra. Joana Conceição e do Professor Doutor Diogo André Afonso Fonseca e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2021

1 2 9 0



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

**Rita Correia Centeio**

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Papel da Microbiota Intestinal nas Perturbações do Espectro do Autismo”, referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, da Dra. Catarina Silva, da Dra. Joana Conceição e do Professor Doutor Diogo André Afonso Fonseca e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2021

Eu, Rita Correia Centeio, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2016230841, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Papel da Microbiota Intestinal nas Perturbações do Espectro do Autismo” 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, 8 de Setembro de 2021.

Rita Correia Centeio

(Rita Correia Centeio)

## **Agradecimentos**

*À minha família. Aos meus pais, pois sem eles nada disto teria sido possível. Obrigada pelos valores que me transmitiram durante toda a minha vida, pelo apoio incondicional, por nunca me dizerem que “não” e por moverem este mundo e o outro para que nada me faltasse. Ao meu irmão, por ser o chatinho que é, mas que está lá sempre para me apoiar e animar. Às minhas avós, por rezarem por mim e acreditarem que sempre era possível. A todos os outros que estiveram sempre comigo a celebrar todas as conquistas alcançadas.*

*Ao André, companheiro de todas as horas. Obrigada por seres sempre o meu porto de abrigo, por toda a paciência e resiliência, por me fazeres descer à terra quando era preciso e me mostrares o que é viver. Sem ti não teria sido tão fácil.*

*Aos amigos que ganhei nestes 5 anos. À Inês, pelos nossos caminhos se terem cruzado, enraizado e nunca mais se terem separado. À Nicole, Carolina e Catarina, pelas aventuras, carinho, conselhos e todos os momentos vividos. Que as “5” sejam para a vida toda.*

*À Carina, Inês e Rute, as amigas de sempre. Por mais distância que nos separe é uma amizade que permanece e fortalece. Por todos os momentos que já passamos, e que só nos tornam mais unidas. Nunca vos largarei.*

*Ao Professor Doutor Diogo Fonseca, por toda a disponibilidade, dedicação e ensinamentos ao longo deste desafio.*

*À equipa da Farmalabor e da Farmácia Soure por todos os conhecimentos e amizade que partilharam comigo.*

*E a Coimbra, que sempre foi a minha cidade, viu-me crescer e acolheu-me nesta etapa tão especial, permitindo-me viver os melhores anos da minha vida.*

*A todos vós, um **obrigada** do fundo do coração não chega para expressar a gratidão que tenho por vos ter na minha vida.*

# ÍNDICE

## Parte I - Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

Lista de Abreviaturas.....	7
1. Introdução .....	8
2. Farmalabor, S.A – Grupo Medinfar.....	9
3. Análise SWOT.....	10
3.1. Pontos Fortes.....	10
3.1.1. Interação com os restantes departamentos da Farmalabor, S.A.....	10
3.1.2. Desenvolvimento de competências informáticas.....	11
3.1.3. Plano de estágio .....	11
3.2. Pontos Fracos.....	13
3.2.1. Restruturação do departamento da Garantia da Qualidade .....	13
3.2.2. Falta de acesso a determinadas informações .....	13
3.3. Oportunidades.....	14
3.3.1. Implementação da metodologia <i>Kaizen</i> .....	14
3.3.2. Visita à produção em sede de Auditoria Interna.....	14
3.3.3. Perspetiva acerca de uma possível saída profissional.....	14
3.4. Ameaças.....	15
3.4.1. Plano Curricular do MICF .....	15
3.4.2. Estágio durante o contexto pandémico.....	15
4. Considerações Finais.....	16
5. Bibliografia .....	17

## Parte 2 - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas.....	19
1. Introdução .....	20
2. Análise SWOT.....	21
2.1. Pontos Fortes.....	21
2.1.1. Contacto com o Sifarma 2000® e Novo Módulo de Atendimento .....	21
2.1.2. <i>Robot</i> .....	21
2.1.3. Preparação de medicamentos manipulados.....	23
2.1.4. Fichas de utente .....	23
2.1.5. Equipa técnica.....	23
2.2. Pontos Fracos.....	24
2.2.1. Insegurança em algumas vertentes do aconselhamento farmacêutico.....	24
2.2.2. Receitas manuais.....	24
2.2.3. Pouco conhecimento das marcas comerciais dos medicamentos.....	25
2.3. Oportunidades.....	25
2.3.1. Formação contínua.....	25
2.3.2. Pertencer a um grupo de farmácias.....	26
2.4. Ameaças.....	26
2.4.1. Avarias dos sistemas de comunicação .....	26
2.4.2. Meio de inserção da Farmácia Soure .....	27
2.4.3. Contexto pandémico.....	27

3. Casos Práticos .....	28
3.1. Criança com diarreia .....	28
3.2. Alergias .....	28
3.3. Feridas.....	28
4. Considerações Finais.....	29
5. Bibliografia .....	30

### **Parte 3 - Monografia**

Resumo.....	32
Abstract.....	33
Lista de Abreviaturas.....	34
1. Introdução .....	36
2. Perturbações do Espectro do Autismo – Breve caracterização.....	37
2.1. Etiologia .....	37
2.2. Características clínicas .....	37
2.3. Fisiopatologia.....	38
3. Caracterização da Microbiota Intestinal.....	38
3.1. Microbiota e Microbioma Intestinal .....	38
3.2. Importância da Microbiota Intestinal .....	39
4. Disbiose Intestinal.....	40
4.1. Definição e causas associadas.....	40
4.1.1. Tipo de parto.....	40
4.1.2. Dieta .....	41
4.1.3. Infecções maternas.....	41
4.1.4. Fármacos.....	41
4.2. Papel da Disbiose Intestinal na Fisiopatologia do Autismo.....	42
4.2.1. Composição alterada da Microbiota Intestinal.....	43
4.2.2. Eixo Intestino-Cérebro .....	44
5. Possibilidade de usar biomarcadores intestinais para diagnóstico.....	51
6. Influência da Microbiota na Farmacocinética.....	52
6.1. Tratamento Farmacológico em PEA.....	53
6.2. Alterações Farmacocinéticas provocadas pela Microbiota.....	53
6.2.1. Interação direta da microbiota nos fármacos .....	53
6.2.2. Interação Indireta da Microbiota nos Fármacos.....	54
7. Intervenções na Microbiota.....	55
7.1. Probióticos.....	56
7.2. Prebióticos .....	58
7.3. Transplante da Microbiota Fecal.....	58
7.4. Antibióticos.....	59
7.5. Dieta.....	60
8. Limitações.....	60
8.1. Estudos em Humanos.....	60
8.2. Estudos em Animais.....	61
9. Considerações Finais.....	61
10. Bibliografia.....	63

# **Parte I**

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

**Farmalabor, S.A. – Produtos Farmacêuticos**

## **Lista de Abreviaturas**

**BPD** – Boas Práticas de Distribuição

**BPF** – Boas Práticas de Fabrico

**BPL** – Boas Práticas Laboratoriais

**CA** – Controlo de Alterações

**CAPA** – Ações Corretivas Ações Preventivas (do inglês *Corrective Actions Preventive Actions*)

**CQ** – Controlo da Qualidade

**GQ** – Garantia da Qualidade

**MA** – Material de Acondicionamento

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MP** – Matéria-Prima

**OOS** – Fora de especificação (do inglês *Out of Specification*)

**RQP** – Revisão da Qualidade do Produto

**SARS-CoV-2** – Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2

**SWOT** – Forças, Fraquezas, Oportunidades, Ameaças (do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*)

**UC** – Unidade Curricular



## **I. Introdução**

A etapa final do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), o segundo semestre do 5º ano, compreende um período de estágio curricular, onde é possível aplicar e consolidar os conhecimentos científicos e tecnológicos que foram obtidos ao longo do nosso percurso académico, mas também, adquirir um vasto leque de competências, que nos preparam para entrar no mercado de trabalho e exercer a profissão da melhor forma.

O MICF apresenta uma vasta gama de conteúdos programáticos, que permite que os seus alunos enveredem por diversas saídas profissionais, dentro do ciclo do medicamento. O caminho profissional mais comum para um aluno do MICF é a Farmácia Comunitária, não só por ser um dos ramos que apresenta muitas oportunidades de empregabilidade, mas também porque o próprio plano curricular nos prepara muito bem para esta saída profissional. Contudo, outras possibilidades, como a Indústria Farmacêutica, também são apresentadas durante a nossa formação académica e, por isso, a realização de um estágio curricular nesta vertente tem uma enorme importância, para quem um dia pretende seguir por um caminho diferente da Farmácia Comunitária.

O estágio em indústria farmacêutica, teve a duração de 3 meses, com início a 12 de janeiro e término a 12 de abril de 2021, tendo sido realizado no departamento da Garantia da Qualidade (GQ), mais concretamente na parte referente ao processo de fabrico, sob orientação da Dra. Catarina Silva.

Este relatório de estágio tem como objetivo a concretização de uma análise concisa e objetiva do estágio em indústria farmacêutica em que abordo qual a minha opinião relativamente aos aspetos inerentes ao estágio, bem como o balanço que retiro da execução deste.

## 2. Farmalabor, S.A – Grupo Medinfar

O grupo Medinfar é sediado na Venda Nova, Amadora, e tem uma unidade fabril situada em Condeixa-a-Nova, a Farmalabor, S.A., onde tive a oportunidade de realizar parte do meu estágio curricular. Fundado em 1970, e com posterior aquisição da Unidade Fabril em 2001, o grupo Medinfar é, atualmente, composto pela Medinfar, Farmalabor, S.A., Medinfar Consumer Health, Medinfar Sorológico, Genéricos Portugueses e, mais recentemente, a DVine <sup>1</sup>.

O seu foco é a investigação, desenvolvimento e produção, seguida da distribuição e comercialização de medicamentos e outros produtos de saúde, não só a nível nacional, mas também internacionalmente, nomeadamente em mais de 40 países <sup>2</sup>.

A Farmalabor, S.A., além de produzir os produtos da marca do grupo Medinfar, também produz para outras empresas farmacêuticas, através de *Contract Manufacturing*, ou seja, permite a produção, por contrato, com outras empresas, podendo esta ser uma produção completa, ou apenas produção a granel, acondicionamento, com inclusão de serviços analíticos e de libertação de lotes. Esta particularidade permiti-lhe ter um vasto leque de produtos, abrangendo medicamentos, cosméticos, suplementos alimentares e produtos de uso veterinário, nas formas sólidas orais, líquidas e semilíquidas não estéreis, e por isso, uma notada experiência na produção dos mesmos <sup>3,4</sup>.

A Farmalabor, S.A., estando alinhada com os objetivos e política do grupo Medinfar, nomeadamente, primazia pelo rigor e qualidade dos seus produtos, nunca esquecendo a sustentabilidade ambiental e a proteção dos colaboradores, encontra-se certificada, respeitando as normas em rigor, ISO 9001, para a Qualidade, ISO 45001, para a Higiene e Segurança do trabalho e ISO 14001, para o Ambiente, bem como cumpre as Boas Práticas de Fabrico (BPF), as Boas Práticas de Laboratório (BPL) e Boas Práticas de Distribuição (BPD) <sup>5</sup>.

### 3. Análise SWOT

A análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) é um método que permite fazer um balanço da experiência de estágio, analisando os fatores internos, pontos fortes e pontos fracos, e os fatores externos, oportunidades e ameaças <sup>6</sup>. Os mesmos encontram-se esquematizados na Tabela abaixo e irão ser explicados e justificados, de seguida, nas respetivas categorias.

**Tabela I** – Esquema resumo da análise SWOT.

Análise SWOT		
	Pontos Fortes	Pontos Fracos
Fatores Internos	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Interação com os restantes departamentos da Farmalabor, S.A.</li><li>2. Desenvolvimento de competências informáticas</li><li>3. Plano de estágio</li></ol>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Restruturação do departamento da Garantia da Qualidade</li><li>2. Falta de acesso a determinada informação</li></ol>
Fatores Externos	Oportunidades	Ameaças
	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Implementação da metodologia <i>Kaizen</i></li><li>2. Visita à produção em sede de Auditoria Interna</li><li>3. Perspetiva acerca de uma possível saída profissional</li></ol>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Plano curricular de MICF</li><li>2. Estágio durante o contexto pandémico</li></ol>

#### 3.1. Pontos Fortes

##### 3.1.1. Interação com os restantes departamentos da Farmalabor, S.A.

A GQ é um departamento fulcral nas indústrias farmacêuticas devido à importância que as suas atividades têm na qualidade dos produtos farmacêuticos. Para além de possuir um conjunto de atividades bastante diversificado tem, também, uma interação constante com os outros departamentos que constituem a empresa, como o controlo de qualidade (CQ), Produção, Planeamento, Compras, entre outros. A ligação da GQ aos restantes departamentos permitiu-me ter uma visão geral das atividades realizadas em todos eles e, por isso, considero que ter feito o estágio neste departamento foi sem dúvida uma mais-valia para o meu futuro profissional.

### **3.1.2. Desenvolvimento de competências informáticas**

Grande parte do trabalho desenvolvido nos diversos departamentos da empresa é feito com recurso a Excel. O conhecimento que possuía desta ferramenta do *Microsoft Office*<sup>®</sup> era de nível básico. Assim, durante o tempo de estágio tive oportunidade de desenvolver em larga escala as competências nesta ferramenta, tanto pelo auxílio prestado parte da equipa, como pela autoaprendizagem, com recurso a vídeos explicativos, ou mesmo exploração da ferramenta em si.

### **3.1.3. Plano de estágio**

O estágio iniciou-se com uma breve apresentação da empresa, seguida de uma introdução sobre as Políticas Ambientais, Higiene e Segurança e posteriormente uma rápida visita por alguns departamentos. Por fim, tive a oportunidade de me familiarizar com as atividades realizadas, conceitos importantes e normas de funcionamento. Após esta abordagem inicial, o estágio consistiu na realização das seguintes atividades:

#### *a) Otimização de um ficheiro de compilação de ações decorrentes de Controlos de Alterações*

A realidade de uma indústria farmacêutica não é estática, muito pelo contrário, está em constante evolução tecnológica e científica, sobretudo no que toca aos sistemas e equipamentos usados, processos, procedimentos, aprovações e autorizações regulamentares. Todas as alterações que são efetuadas dentro da indústria, que possam ter influência direta ou indireta na qualidade dos produtos produzidos, têm que ser devidamente geridas, pois a rastreabilidade é uma questão fundamental. Para isso, existem os Controlos de Alterações (CA), que têm como objetivo manter sob controlo interno, bem como informar os clientes envolvidos, de alterações que tenham impacto em qualquer fase do ciclo de vida do produto em questão, refletindo o sistema de qualidade farmacêutica praticado na empresa. Decorrentes destes CA, surgem ações que têm que ser realizadas de modo a que a alteração seja implementada de forma adequada e eficaz.

O trabalho que desenvolvi foi a otimização de um ficheiro contendo todas as ações derivadas de Controlo de Alterações desde 2018 a 2020 e, posterior *follow-up* do estado de implementação (Implementado ou Em implementação), e conseqüentemente dar como concluído o CA, após implementação de todas ações. Considero que esta atividade foi bastante importante, pois permitiu-me ter uma visão geral de todas as alterações que podem ocorrer numa indústria farmacêutica, assim como os processos subjacentes às mesmas.

Adicionalmente, esta atividade teve um carácter bastante relevante para a empresa, fazendo sentir que o meu trabalho como estagiária foi efetivamente útil.

b) Participação em investigações decorrentes de Desvios e Out of Specification

Por vezes, eram detetados valores fora dos limites de especificações, durante as análises feitas pelo CQ, o que dava origem a um OOS, *out of specification*, que por sua vez podia dar origem a um desvio, caso o OOS fosse fechado e validado. Perante isto, torna-se necessário a investigação da causa-raiz, que pode ser devido a problemas no processo de fabrico ou, por vezes, erro humano. A minha função nestas investigações passava sobretudo por recolher e compilar o histórico de características do processo de fabrico (matérias-primas, material de acondicionamento, equipamentos, dados da instrução de fabrico) e parâmetros do produto (humidade, tempo de secagem, tempo de mistura, etc.). Esta compilação permitia determinar a existência de alterações e, conseqüentemente, a causa do desvio. Após a descoberta da causa, seguia-se a determinação de ações corretivas e preventivas (CAPAs), para limitar a ocorrência do desvio.

Esta atividade foi muito importante pois permitiu-me desenvolver um espírito crítico em relação à informação recolhida e, assim retirar conclusões, quanto à possível causa. Além disso, foi muito enriquecedor perceber quais os problemas que podem despoletar uma diminuição da qualidade dos produtos e como estes são solucionados.

c) Avaliação anual de fornecedores de matérias-primas e material de acondicionamento

Todos os anos é necessário fazer uma avaliação qualitativa de matérias-primas (MP), princípio ativo e excipientes, e material de acondicionamento (MA), primário e secundário, que são recebidos na Farmalabor, S.A., de modo a verificar se o respetivo fornecedor tem uma apreciação positiva para continuar a disponibilizar matérias-primas para a Farmalabor, S.A. Esta avaliação é feita tendo em conta se houve algum parâmetro não conforme durante a avaliação dos mesmos, sendo atribuído a cada material/fornecedor/fabricante uma pontuação de 0-100%. Esta é colocada num ficheiro que compila todos os materiais, que se denomina LAC (Listagem de Avaliação Contínua de Fornecedores/Fabricantes de MP/MA).

Para o ano de 2020, consultei dados da avaliação de todos as matérias recebidas pela Farmalabor, S.A., disponibilizados pelo CQ, que permitiam atribuir a cada um deles a respetiva avaliação qualitativa. Esta avaliação tem grande relevância pois permite uma melhoria contínua da qualidade dos materiais que a Farmalabor, S.A. utiliza no fabrico dos produtos, bem como uma redução dos custos associados à amostragem dos materiais.

#### d) Participação no preenchimento da Revisão da Qualidade do Produto (RQP)

Este tipo de documento, como o nome indica, consiste numa revisão periódica do estado da qualidade dos produtos farmacêuticos. Tem como objetivo atestar a consistência do processo de fabrico e, conseqüentemente, das características dos produtos, assegurando o cumprimento de todas as especificações quando os lotes são libertados, para além de permitir identificar resultados atípicos, que eventualmente possam surgir, durante o período de tempo em questão.

O facto de ter tido contacto com esta informação teve muita relevância nos conhecimentos adquiridos durante o estágio, pois estas atividades são praticamente transversais a qualquer Indústria Farmacêutica e, assim, ter visualizado exemplos claros de como podem ocorrer, como é feito o seu processamento, e, por fim, como é atingida a resolução, tem grande importância no modo como, no futuro profissional, vou conseguir resolver situações semelhantes.

### **3.2. Pontos Fracos**

#### **3.2.1. Restruturação do departamento da Garantia da Qualidade**

Durante o período em que realizei o estágio na Farmalabor, S.A., o departamento onde me encontrava inserida sofreu uma reestruturação, o que implicou a redistribuição de atividades consoante as prioridades. Esta mudança, foi um ponto fraco na medida em que causou alguma instabilidade, ainda que temporária, no departamento, bem como, o plano de estágio inicialmente delineado também sofreu algumas alterações, nomeadamente algumas tarefas, como a revisão do procedimento do Controlo de Alterações. No entanto, esta reestruturação deu-me a oportunidade de realizar outras atividades com bastante relevância e ter contacto com outras matérias, que não estavam previstas inicialmente, como foi o caso das Auditorias. Adicionalmente, considero que foi enriquecedor presenciar a mudança de equipa, uma vez que a mudança faz parte quotidiano empresarial.

#### **3.2.2. Falta de acesso a determinadas informações**

Na minha condição de estagiária, tinha acesso limitado a alguns conteúdos, por exemplo informações regulamentares, o que condicionava a minha autonomia, acabando por ficar dependente de outros que acessem à informação. Embora compreenda que estas matérias tenham de ser resguardadas, por questões de confidencialidade, é bastante limitativo do ponto de vista de aprendizagem e da fomentação de autonomia, que todos os dias pretendia desenvolver um pouco mais.

### **3.3. Oportunidades**

#### **3.3.1. Implementação da metodologia *Kaizen***

Este tipo de metodologia tem como objetivo a melhoria contínua, redução do erro, otimização de processos e integração das equipas, permitindo às empresas que a implementam aumentarem a produtividade e diminuïrem os custos associados, alcançando assim melhores resultados, de uma forma contínua <sup>7</sup>. Na GQ, a metodologia *Kaizen* favorece sobretudo a organização do plano de trabalho, a preparação de melhorias que sejam necessárias executar e a demonstração de indicadores, que permitem acompanhar a evolução do trabalho realizado no departamento. Uma das características desta metodologia era a realização de reuniões diárias, normalmente com uma duração curta, que tinham como principal objetivo a organização do plano de trabalho a executar no respetivo dia. Além disto, eram comunicados eventuais constrangimentos que pudessem prejudicar o plano já delineado.

Ter tido a oportunidade de assistir à implementação deste programa, a partir do zero, deu-me ferramentas, para que no meu futuro profissional possa compreender e interpretar quadros *Kaizen* já implementados, bem como conseguir facilmente identificar melhorias que eventualmente possam ser implementadas, mas também ter a capacidade de conseguir ajudar na implementação desta metodologia. Para além destas oportunidades, por vezes, as reuniões eram realizadas em inglês, o que permitia aos colaboradores aprimorarem a facilidade em comunicar nesta língua, pois, como referi anteriormente, alguns dos clientes da empresa são internacionais.

#### **3.3.2. Visita à produção em sede de Auditoria Interna**

Uma vez que o meu estágio teve lugar durante um período de reestruturação, as oportunidades de visitar a área da produção, com um dos membros do departamento, de modo a receber uma explicação do funcionamento, dos processos, e afins, foram escassas. No entanto, surgiu a oportunidade de visitar a área da produção em sede de Auditoria Interna.

Foi muito vantajoso poder fazer a visita nestas circunstâncias, uma vez que pude observar quais os pontos que são abordados neste tipo de inspeções e quais as medidas a implementar quando são observadas não conformidades.

#### **3.3.3. Perspetiva acerca de uma possível saída profissional**

Como referi anteriormente, a abordagem que é feita, durante a formação académica de um estudante de MICE, é muito superficial no que toca à Indústria Farmacêutica, uma vez que esta área é muito vasta.

Realizar um estágio em Indústria foi muito importante, pois permitiu-me ter uma percepção real das atividades que são praticadas diariamente nesta área e acompanhá-las de perto, bem como dos contratempos que mais frequentemente surgem, tendo uma noção real do que consiste este ramo do mundo farmacêutico. Ainda que o meu estágio tenha sido na GQ, e as atividades realizadas serem mais características deste departamento, consegui igualmente ter uma visão geral sobre as restantes áreas e, deste modo, adquirir competências, relacionadas diretamente com a componente farmacêutica, mas também de poder crítico, gestão e autonomia.

### **3.4. Ameaças**

#### **3.4.1. Plano Curricular do MICF**

O plano curricular do MICF é muito abrangente, apresentando unidades curriculares (UC) com grande relevância para a Indústria Farmacêutica, nomeadamente, Tecnologia Farmacêutica I, II e III, Assuntos Regulamentares, e Gestão e Garantia de Qualidade.

No entanto, a formação teórica que nos é proporcionada durante este percurso académico, por vezes, fica aquém do trabalho que é realizado nestas indústrias. Falando concretamente da área da Garantia da Qualidade, o contacto que temos com estas temáticas, nomeadamente na UC de Gestão e Garantia da Qualidade, é feita de uma forma muito teórica e superficial, não transparecendo a real importância que adquire no dia a dia de uma Indústria Farmacêutica sendo, por isso, uma ameaça para os futuros farmacêuticos que pretendam seguir por este caminho.

#### **3.4.2. Estágio durante o contexto pandémico**

Quando iniciei o estágio na Farmalabor, S.A., o país atravessava um contexto de pandemia devido ao vírus SARS-CoV-2 e, portanto, a adoção de medidas para a mitigação do risco de contágio era obrigatória. Estas medidas traduziram-se em distanciamento social nos espaços comuns, como a cantina e o bar, bem como nos gabinetes de trabalho, e a adoção de teletrabalho, sempre que possível.

Esta realidade não é a mais favorável para um estagiário, que está a ter o seu primeiro contacto com o mercado de trabalho, uma vez que o ambiente profissional com que me deparei é muito invulgar, ainda que tivesse sempre alguém do departamento para me auxiliar em qualquer dúvida e/ou problema, que surgisse.



#### **4. Considerações Finais**

Realizar o estágio curricular na Farmalabor, S.A., permitiu-me ter um primeiro contacto com uma área, que até ao momento ainda era desconhecida para mim e, assim, alargar os horizontes, relativamente à noção pré-concebida que tinha do trabalho de um farmacêutico na IF, percebendo melhor quais os cargos e tarefas que estes desempenham, bem como ter uma maior noção do funcionamento de uma indústria em si.

O departamento da Garantia da Qualidade permitiu-me, não só aplicar alguns dos conhecimentos que adquiri ao longo do meu percurso académico, mas também obter um novo conjunto de ferramentas, tais como gestão de tempo, espírito crítico, entre outros, que vão ser indispensáveis no futuro profissional, ajudando-me ser uma melhor farmacêutica, em qualquer função que venha a desempenhar, pelo que o balanço que retiro é bastante positivo.

Esta experiência fez-me crescer, tanto a nível pessoal como profissional, pois durante os 3 meses alcancei conhecimentos de uma forma contínua, tirando sempre o melhor partido de todos os acontecimentos que presenciei.

Estou muito grata por ter sido acompanhada por uma equipa muito dinâmica e motivada, que sempre procurou proporcionar-me desafios que me fizessem aprender um pouco mais todos os dias.

## 5. Bibliografia

1. GRUPO MEDINFAR - **História**. [Acedido a 23 de maio de 2021]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/sobre-nos/historia>
2. GRUPO MEDINFAR - **Quem Somos**. [Acedido a 6 de abril de 2021]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/sobre-nos/quem-somos>
3. GRUPO MEDINFAR - **Produção**. [Acedido a 6 de abril de 2021]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/industria/producao>
4. GRUPO MEDINFAR - **Fabrico por contrato**. [Acedido a 6 de abril de 2021]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/industria/fabrico-por-contrato>
5. GRUPO MEDINFAR - **Certificação**. [Acedido a 6 de abril de 2021]. Disponível na Internet: <https://www.medinfar.pt/pt/industria/certificacao>
6. GOOD INTELLIGENCE - **Análise SWOT – conceito; como, quem e quando fazer**. [Acedido a 23 de maio de 2021]. Disponível na Internet: <https://goodi.pt/analise-swot/>
7. KAIZEN INSTITUTE™ - **Homepage Kaizen Institute Portugal**. [Acedido a 5 de maio de 2021]. Disponível na Internet: <https://pt.kaizen.com/>

## **Parte 2**

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

**Farmácia Soure**

## **Lista de Abreviaturas**

**DCI** – Denominação Comum Internacional

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MSRM** - Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

**SARS-CoV-2** – Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2

**SWOT** – Forças, Fraquezas, Oportunidades, Ameaças (do inglês, *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*)

## **I. Introdução**

Para obtenção do título de formação de farmacêutico, o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) culmina com a realização obrigatória de um estágio em farmácia comunitária, que complementa a formação teórica e prática realizada durante o anterior percurso académico.

As atividades levadas a cabo na farmácia comunitária apresentam como foco o utente e proporcionam uma vasta gama de serviços que apoiam a comunidade envolvente, relacionadas não só com a acessibilidade equitativa ao medicamento, mas também, na prestação de cuidados de saúde essenciais, no seu meio de inserção <sup>1</sup>.

Deste modo, a realização deste estágio permite consolidar os conhecimentos científicos e técnicos, sobretudo na área do aconselhamento farmacêutico e adquirir, ainda, um conjunto de aptidões sociais, como é o caso da comunicação, empatia e adequabilidade às diversas situações que são apresentadas, essenciais no estabelecimento de uma ligação de maior proximidade com o utente.

Tive a oportunidade de realizar o estágio curricular na Farmácia Soure, sob orientação da Dra. Joana Conceição, e da restante equipa, de 13 de abril a 6 de agosto de 2021, num total de 670 horas.

Este relatório de estágio, expõe quais foram os pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças, de uma forma concisa e objetiva, bem como o balanço que retiro da realização do mesmo.

## 2. Análise SWOT

A análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*) é um método que permite fazer um balanço da experiência de estágio na Farmácia Soure, analisando os fatores internos, pontos fortes e pontos fracos e os fatores externos, oportunidades e ameaças <sup>2</sup>. Os mesmos encontram-se esquematizados na figura abaixo e irão ser explicados e justificados, de seguida, nas respetivas categorias.

**Tabela 2** - Esquema resumo da análise SWOT

Análise SWOT		
	Pontos Fortes	Pontos Fracos
Fatores Internos	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Contacto com o Sifarma 2000<sup>®</sup> e Novo Módulo de Atendimento</li><li>2. Robot</li><li>3. Preparação de Medicamentos Manipulados</li><li>4. Fichas de utente</li><li>5. Equipa técnica</li></ol>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Insegurança em algumas vertentes do aconselhamento farmacêutico</li><li>2. Receitas manuais</li><li>3. Pouco conhecimento das marcas comerciais dos medicamentos</li></ol>
Fatores Externos	Oportunidades	Ameaças
	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Formação contínua</li><li>2. Pertencer a um Grupo de Farmácias</li></ol>	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Avarias dos serviços de comunicação</li><li>2. Meio de inserção da Farmácia Soure</li><li>3. Contexto pandémico</li></ol>

### 2.1. Pontos Fortes

#### 2.1.1. Contacto com o Sifarma 2000<sup>®</sup> e Novo Módulo de Atendimento

O Sifarma<sup>®</sup> é um *software* utilizado na gestão e atendimento na grande maioria das farmácias comunitárias em Portugal <sup>3</sup>. Durante o estágio, tive a oportunidade de trabalhar com o Sifarma 2000<sup>®</sup>, maioritariamente para a criação e receção de encomendas e atividades de *backoffice* (por exemplo, gestão de *stocks*), e com o Novo Módulo de Atendimento, sobretudo no atendimento ao utente. A equipa da Farmácia Soure, como farmácia piloto na implementação deste novo módulo, já possuía bastante experiência na utilização deste recente *software*, o que foi útil para a rápida aprendizagem do mesmo.

O novo módulo de atendimento, revelou ser visualmente mais apelativo e muito mais intuitivo no modo de funcionamento. Aqui é permitida uma maior gestão durante o

atendimento, isto é, uma maior facilidade de adição ou remoção de componentes e produtos, consoante as preferências do utente; aviso de campanhas em vigor; gestão dos documentos de faturação mais intuitivo (por IVA, produto ou utente). Apesar destas vantagens, como ainda é um software em desenvolvimento, a existência de atualizações era recorrente, o que obrigava a alguma perseverança na aprendizagem do funcionamento deste, e ainda, alguma flexibilidade, pois muitas vezes era necessário efetuar operações nos dois sistemas simultaneamente.

Adquirir experiência em ambos os sistemas informáticos foi, sem dúvida, um dos grandes pontos fortes do estágio, pois dominar as duas versões do software mais utilizado nas farmácias, a versão mais recente e a versão mais antiga, é um fator diferenciador no mercado trabalho.

### **2.1.2. Robot**

A Farmácia Soure possui um *robot*, o que é uma mais-valia a nível da gestão interna da farmácia. Mais concretamente, após receção e conferência das encomendas, o *robot* é bastante útil pois permite economizar tempo e espaço da arrumação. Nas embalagens mais recentes dos medicamentos, existe um código QR que é lido pelo *robot*, onde ele assume automaticamente qual é o medicamento e qual a sua validade, nas embalagens que não possuem este código, apenas é necessário garantir que a validade é superior à estabelecida no *robot* e, caso não seja, é necessário alterar a validade manualmente no momento da entrada da caixa, posteriormente, aquando da dispensa, as embalagens que apresentam menor validade têm prioridade, seguindo o princípio *first expired, first out*. Esta funcionalidade é deveras importante pois permite um adequado controlo das validades. A nível do atendimento, a meu ver, é onde se encontra a maior vantagem, pois após seleção dos produtos pretendidos, o *robot* entrega as embalagens numa espiral imediatamente atrás do balcão de atendimento, permitindo ter um atendimento mais eficiente, mais cómodo e com maior tempo de interação com o utente.

Apesar de considerar que *robot* é, sem dúvida, muito útil, por vezes também causava alguns transtornos. Quando se verificava um volume elevado de encomendas, o tempo de arrumação podia ser bastante longo, especialmente se estivessem a ocorrer atendimentos simultaneamente, uma vez que a prioridade do *robot* é a dispensa de medicamentos, e só depois a arrumação. Adicionalmente, o *robot* também podia bloquear durante a dispensa de medicamentos, o que obrigava que um dos elementos tivesse que se dirigir ao *robot*, resolver

o erro e reiniciar a sua atividade, o que causava, inevitavelmente, entraves e demora no atendimento ao utente.

### **2.1.3. Preparação de medicamentos manipulados**

O medicamento manipulado, “*preparado oficial ou fórmula magistral preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico*”<sup>4</sup>, é um tipo de medicamento usado, sobretudo, perante necessidades específicas de um utente, quando ainda não existe uma alternativa na indústria farmacêutica. Devido à evolução científica e tecnológica da indústria farmacêutica, a preparação de medicamentos manipulados na farmácia comunitária têm sofrido uma drástica diminuição. No entanto, na Farmácia Soure, a preparação destes ainda é uma prática relativamente recorrente. Posto isto, o facto de poder participar, tanto na preparação do medicamento manipulado e, assim, aplicar os conhecimentos em galénica que obtive ao longo do meu percurso académico, como preencher a ficha de preparação do medicamento manipulado (matérias-primas, quantidades, características organolépticas, prazo de validade, condições de armazenamento e cálculo do preço), e respetivo rótulo, permitiu consolidar vários conceitos, e tornar-me uma profissional de saúde mais experiente nesta área.

### **2.1.4. Fichas de utente**

Farmácia Soure insere-se numa vila e, por isso, serve uma população mais restrita, tendo uma vasta panóplia de utentes habituais. A existência das fichas de utente no sistema permitia aceder a vários dados, como o histórico de compras e dados pessoais, facilitando bastante o atendimento e também favorecendo o elo de ligação ao utente.

Como estagiária, que estava pela primeira vez a ter contacto direto com a população que a Farmácia Soure serve, poder consultar estes dados foi uma mais-valia para poder ter um maior conhecimento do utente que estava perante mim, tendo sido muito útil, sobretudo no atendimento a utentes mais idosos, de modo a conseguir ceder a medicação crónica do laboratório habitual e perceber a frequência de administração de medicamentos que requerem maior controlo.

### **2.1.5. Equipa técnica**

A equipa da Farmácia Soure, constituída por farmacêuticos, técnicos de farmácia e técnicos auxiliares de farmácia, possui um espírito de equipa e companheirismo admiráveis, recebendo-me de forma muito calorosa, o que facilitou bastante a minha integração. Estiveram sempre disponíveis para responder às minhas questões e auxiliarem em qualquer problema que surgisse no dia-a-dia, o que foi indispensável para conseguir desenvolver-me



profissionalmente e, progressivamente, conseguir adquirir mais autonomia no trabalho desenvolvido.

## **2.2. Pontos Fracos**

### **2.2.1. Insegurança em algumas vertentes do aconselhamento farmacêutico**

De todas as atividades do estágio, o atendimento ao público era, sem dúvida, a que me deixava mais desconfortável, uma vez que é a que acarreta mais responsabilidade, na minha opinião. A passagem para o atendimento ao público realizou-se de forma progressiva e suave. Em primeiro lugar comecei por assistir ao atendimento realizado pelos farmacêuticos, depois comecei a fazer eu própria o atendimento com a supervisão de um farmacêutico, tanto para questões informáticas, no módulo de atendimento do Sifarma<sup>®</sup>, como no aconselhamento de determinadas situações mais complicadas, e, por fim, passei a realizar o atendimento sozinha. Nesta última fase, sentia alguma insegurança, sobretudo nas áreas de veterinária, suplementação e alguns dispositivos médicos. Esta insegurança foi progressivamente ultrapassada com o auxílio da equipa, que sempre procurou impulsionar os meus conhecimentos, com as explicações prestadas pelos delegados de informação médica que se deslocavam recorrentemente à farmácia, e com as formações a que tive a oportunidade de assistir.

### **2.2.2. Receitas manuais**

Com o crescente esforço no sentido de desmaterializar o circuito de prescrição, a prescrição de medicamentos através de receitas manuais ocorre de forma muito pontual, podendo apenas ser realizada em situações excecionais, como *“falência do sistema informático; inadaptação fundamentada do prescriptor, previamente confirmada e validada anualmente pela respetiva ordem profissional; prescrição ao domicílio; outras situações até um máximo de 40 receitas médicas por mês”*<sup>5</sup>. Para o correto processamento deste tipo de receitas é necessário ter em conta vários aspetos: Identificação do utente, organismo de participação e respetivo nº de utente, vinheta do médico, identificação da exceção legal, assinatura do prescriptor e data (não pode ser superior a 30 dias). Relativamente aos medicamentos prescritos é necessário a identificação clara do medicamento, dosagem, número de embalagens e posologia. Após confirmação de todos estes pontos, os medicamentos dispensados são impressos no verso da receita, com o respetivo plano de participação e assinatura do utente. Posteriormente, quem efetuou o atendimento deve carimbar e assinar a receita, sendo esta guardada num local próprio para que sejam novamente confirmadas no final do mês por um segundo elemento da equipa.

A interpretação deste tipo de receitas deixava-me sempre um pouco desconfortável pois a caligrafia do prescriptor era muitas vezes pouco perceptível, deixando-me na incerteza de qual o medicamento em questão. Para além disto, e como é necessário ter vários fatores em conta para que a receita seja processada com sucesso, confirmava sempre com um dos colegas se todos os pontos que era necessário ter conta estavam corretos, de modo a garantir que não existiam erros de dispensa que pudessem comprometer tanto a saúde do utente, como o reembolso, por parte do estado, dos medicamentos comparticipados. Com o passar do tempo e com a maior oportunidade de manusear este tipo de receitas, fui ganhando confiança no ato de dispensa dos produtos nela indicados.

### **2.2.3. Pouco conhecimento das marcas comerciais dos medicamentos**

Na fase inicial do estágio em farmácia comunitária, apenas tinha facilidade em reconhecer os medicamentos prescritos/requisitados pelo utente através Denominação Comum Internacional (DCI), e uma maior dificuldade em reconhecer certos medicamentos pelo nome comercial. Muitas vezes o utente pronunciava de forma incorreta o nome do medicamento, o que dificultava a associação entre este e a respetiva substância ativa. Nestas situações, tentava ultrapassar esta dificuldade através de uma busca no Sifarma®, *internet* e, quando mesmo assim não conseguia chegar ao medicamento pretendido, recorria aos colegas que, devido à vasta experiência, auxiliavam-me a chegar ao medicamento pretendido.

Com o passar do tempo, e com o contacto cada vez maior com este tipo de medicamentos, reconhecer os nomes comerciais começou a ser cada vez mais fácil, e assim, ter um atendimento muito mais intuitivo perante este tipo de situações.

## **2.3. Oportunidades**

### **2.3.1. Formação contínua**

O mercado farmacêutico é caracterizado por estar sempre em evolução científica e tecnológica, o que proporciona que seja frequente a introdução de novos produtos dos diversos segmentos que são comercializados em farmácia comunitária. Posto isto, era frequente haver formações proporcionadas pelas diversas marcas/laboratórios e realizadas pelos respetivos delegados de informação médica, de modo a apresentar os novos produtos, explicando quais são as suas indicações e vantagens e relembrar certas características ou esclarecer algumas dúvidas relativamente aos produtos já comercializados. Estas formações assumem um papel de grande importância por permitirem uma constante atualização do profissional de saúde, permitindo-lhe não só ter conhecimento dos mais recentes

desenvolvimentos da indústria farmacêutica como também adquirir um conhecimento mais aprofundado dos produtos que tem à sua disposição e, deste modo, estará mais habilitado para fazer um aconselhamento adequado ao utente.

Enquanto estagiei na Farmácia Soure tive a oportunidade de assistir a estas formações, complementando o conhecimento que possuía, mas também tomar conhecimento de uma vasta gama de produtos e assim, proporcionar um atendimento mais completo ao utente. A área da cosmética foi aquela que considero ter sido mais útil. Existe uma vasta gama de produtos de características distintas e é indispensável conhecê-los bem para poder fazer o aconselhamento adequado, seguro e eficiente.

### **2.3.2. Pertencer a um grupo de farmácias**

Farmácia Soure pertence a um grupo de 9 farmácias espalhadas por várias localidades. A principal vantagem que retiro, é o facto de ser muito útil quando o utente necessita de um medicamento esgotado, ou de um produto específico que não estava disponível na Farmácia Soure. Através do sistema Sifarma® era possível verificar o stock remoto das farmácias do grupo e, com um rápido telefonema, o produto era enviado para a Farmácia Soure. Deste modo, satisfazer as necessidades do utente era mais fácil, o que contribuía para o seu contentamento e fidelização à farmácia.

## **2.4. Ameaças**

### **2.4.1. Avarias dos sistemas de comunicação**

Por algumas vezes, houve erros de comunicação do sistema informático Sifarma®. Estas avarias provocavam muitos transtornos a nível do atendimento, não sendo possível aceder às receitas eletrónicas que os utentes possuíam. Perante esta situação, a farmácia era obrigada a fazer vendas suspensas, nos casos em que o utente sabia o conteúdo da receita e qual o medicamento que pretendia. Nas situações em que o utente apenas possuía os dados da receita no telemóvel e não tinha conhecimento do seu conteúdo, não era possível realizar o atendimento.

Estas avarias causavam bastantes constrangimentos durante o atendimento, mas foram úteis para desenvolver a capacidade de comunicação com o utente, especialmente nestas situações mais delicadas.

#### **2.4.2. Meio de inserção da Farmácia Soure**

A Farmácia Soure está inserida num meio mais ou menos rural, com uma faixa significativa de população com uma idade avançada. Esta realidade implica que muitos dos atendimentos consistiam em dispensar Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM), para o tratamento de situações sobretudo crónicas, mas também agudas.

Deste modo, sinto que as oportunidades de conseguir aconselhar outro tipo de produtos, como é o caso de produtos cosméticos, foram menos recorrentes.

#### **2.4.3. Contexto pandémico**

Perante a situação pandémica que se instalou no país devido ao vírus SARS-CoV-2, a afluência à farmácia, no período em que ocorreu o estágio, sofreu uma diminuição drástica. Os utentes apenas se deslocavam para situações mais essenciais e urgentes, levando apenas medicamentos e produtos de saúde de que necessitavam realmente, na grande maioria dos casos. Uma vez mais, isto tem consequência a nível da diminuição na diversidade de atendimentos e aconselhamento farmacêutico prestados por mim, enquanto estagiária, o que inevitavelmente tem repercussões a nível do desenvolvimento profissional. Para além disto, verifica-se um maior distanciamento entre o utente e o profissional de saúde que o está a atender, devido à distância de segurança obrigatória, acrílicos e máscaras. Isto trouxe consequências tanto a nível do entendimento entre o utente e quem o está a atender, especialmente nos mais idosos que têm mais dificuldades em ouvir e mesmo em expressar-se, mas também no estabelecimento de uma relação de confiança e proximidade com o utente.

### **3. Casos Práticos**

#### **3.1. Criança com diarreia**

Uma utente dirigiu-se à farmácia com a filha de 6 anos. Queixou-se que esta tinha diarreia desde o dia anterior, ao fim da tarde. A criança apresentava-se bem-disposta e sem sinais de desidratação. Questionei se tinha tido febre, e a resposta foi negativa. De seguida perguntei se tinha comido algo de anormal, que pudesse ter desencadeado a diarreia, uma vez mais a resposta foi negativa, acrescentado que a criança fazia algumas refeições na creche e nenhuma outra tinha desenvolvido estes sintomas. Como medida terapêutica recomendei um probiótico adequado à idade, o *Lactoflora® Intestinal Junior*, para tomar 1 frasco por dia, após uma refeição, para auxiliar no restabelecimento da função intestinal, associado a uma boa ingestão hídrica, para evitar desidratação. Adicionalmente recomendei a ingestão de comidas leves e pouco condimentadas. Por fim, recomendei que se a diarreia persistisse mais de 3 dias, fizesse febre ou apresentasse sinais de desidratação, deveria deslocar-se ao centro de saúde mais próximo de modo a ser observada por um médico.

#### **3.2. Alergias**

Uma adolescente, do sexo feminino de 17 anos, dirigiu-se à farmácia queixando-se de alergias. Questionei quais os sintomas que estava a experienciar e foram referidos os seguintes: corrimento nasal abundante, nariz entupido e comichão na garganta associados a espirros intensos. Questionada sobre se esta sintomatologia era recorrente, a utente respondeu que todos os anos tinha pelo menos um episódio destes. Recomendei um anti-histamínico H1 de 2º geração, o *Telfast® 120*, para tomar 1 comprimido por dia, 1h antes das refeições, durante 3 a 5 dias. Para alívio da congestão e corrimento nasal aconselhei um vasoconstritor tópico, como o *Vibrocil® Spray Nasal*, aplicar 1 a 2 nebulizações em cada narina, 3 vezes ao dia. Adicionalmente recomendei o aumento de ingestão de líquidos, e se os sintomas não aliviassem dentro de 7 dias deveria dirigir-se ao centro de saúde.

#### **3.3. Feridas**

Um utente, do género masculino, apresenta-se na farmácia com uma ferida na perna. Queixa-se que a ferida está com dificuldade em cicatrizar. Após observar a ferida constatei que esta era pouco extensa, superficial e estava aberta. Não apresentava sinais de infeção, apenas uma ligeira vermelhidão nos rebordos. Questionado sobre se tinha colocado algum produto, o utente informou que apenas tinha posto um pouco de *Biafine®*, mas que não tinha tido qualquer efeito. Após esta avaliação preliminar, aconselhei a lavar a ferida com soro, de

seguida desinfetar com *Betadine® Solução Cutânea*, e por fim aplicar *Bepanthen® Plus Creme*, 2 a 3 vezes por dia, que possui uma ação antisséptica, devido à cloro-hexidina, o que diminui o risco de infecção, e dexpanthenol, que vai promover a regeneração da pele, repetindo este tratamento diariamente, até a pele cicatrizar completamente.

#### **4. Considerações Finais**

Ter realizado o estágio em farmácia comunitária permitiu-me ter uma verdadeira compreensão do papel do farmacêutico nesta área. Não se limita a dispensar medicamentos, mas sim em auxiliar o utente em qualquer dúvida ou problema que surja, muitas vezes numa situação de primeira linha, tendo um papel de extrema relevância no que toca à saúde da população em geral, com uma versatilidade e capacidade de adaptação extraordinárias perante cada situação que lhe é apresentada.

Esta experiência permitiu-me consolidar os conhecimentos que obtive ao longo destes 5 anos, sobretudo na área do aconselhamento farmacêutico, mas também, adquirir um vasto leque de outras capacidades, em que saliento sobretudo a capacidade de comunicação com o público diversificado, e de um verdadeiro espírito de equipa. Sinto-me verdadeiramente uma profissional mais completa, mas sempre com a perceção que é uma carreira que exige uma aprendizagem constante, focada no bem-estar da população que serve.

Não posso deixar de salientar a sorte que tive em poder ser orientada por uma equipa extraordinária, como a da Farmácia Soure, em que o companheirismo e entreatajuda faziam sempre parte do nosso dia-a-dia, permitindo-me sentir parte da equipa e, assim, aprender, questionar e evoluir tanto profissionalmente, como pessoalmente.

## 5. Bibliografia

1. Ordem dos Farmacêuticos - **A Farmácia Comunitária**. [Acedido a 19 de agosto de 2021]. Disponível na Internet: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/a-farmacia-comunitaria/>
2. GOOD INTELLIGENCE - **Análise SWOT – conceito; como, quem e quando fazer**. [Acedido a 23 de maio de 2021]. Disponível na Internet: <https://goodi.pt/analise-swot/>
3. GLINTT - **Sifarma**. [Acedido a 19 de agosto de 2021]. Disponível na Internet: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>
4. INFARMED, I.P. - **Medicamentos manipulados**. [Acedido a 20 de agosto de 2021]. Disponível na Internet: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/inspecao-medicamentos/medicamentos-manipulados>
5. Portaria n.º 284-A/2016, de 4 de novembro de 2016 do Ministério da Saúde. Diário da República: 1º Suplemento, Série I, n.º 212 (2016). [Acedido a 20 de agosto de 2021]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/application/conteudo/75660778>

# **Parte 3**

Monografia

**“Papel da Microbiota Intestinal nas Perturbações  
do Espectro do Autismo”**



## Resumo

As Perturbações do Espectro do Autismo englobam um conjunto de distúrbios do neurodesenvolvimento. A fisiopatologia desta doença é muitas vezes idiopática, podendo ocorrer devido a predisposição genética, fatores ambientais, ou ainda, resultar da interação dos dois. Tem como consequência défices na comunicação e interação social, comportamentos anormais, estereotipados e repetitivos e, com grande prevalência, sintomas gastrointestinais. Está comprovado que a microbiota intestinal tem impacto em inúmeras funções imunológicas, metabólicas e neuronais, através da comunicação bidirecional entre o cérebro e o intestino, denominada eixo intestino-cérebro. Vários estudos demonstram que o intestino tem a capacidade de influenciar o desenvolvimento do cérebro. Assim, surgiu a hipótese de que a disbiose intestinal pudesse estar implicada na fisiopatologia desta doença. A composição alterada da microbiota pode modular as vias de interação entre a microbiota e o sistema nervoso central, o que vai originando consequências a nível comportamental e cognitivo, e por sua vez originando diferentes fenótipos da doença. Simultaneamente, terapêuticas que têm como objetivo restabelecer o equilíbrio da microbiota apresentam efeitos benéficos na diminuição da severidade e correção dos comportamentos destes doentes. Neste documento é feita uma análise à alteração das vias de comunicação do eixo intestino-cérebro, qual a influência que a disbiose exerce nas mesmas, e como é que a modulação do intestino pode ser benéfica para o doente com perturbação do espectro do autismo.

**Palavras-chave:** Autismo, microbiota, microbioma, disbiose, eixo intestino-cérebro, intestino, neurodesenvolvimento.

## **Abstract**

Autism Spectrum Disorders encompass a set of neurodevelopmental disorders. The pathophysiology of this disease is often idiopathic and may occur due to genetic predisposition, environmental factors, or even result from the interaction of both. It results in deficits in communication and social interaction, abnormal, stereotyped, and repetitive behaviors, and, with great prevalence, gastrointestinal symptoms. It has been proven that the gut microbiota has an impact on numerous immune, metabolic and neuronal functions, through bidirectional communication between the brain and the intestine, called gut-brain axis. Several studies show that the intestine has the capacity to influence brain development. Thus, the hypothesis emerged that intestinal dysbiosis could be involved in the pathophysiology of this disease. The altered composition of the microbiota may modulate the interaction pathways between the microbiota and the central nervous system, leading to behavioral and cognitive consequences, and in turn different disease phenotypes. Simultaneously, therapies that aim to restore the balance of the microbiota have beneficial effects in reducing the severity and correcting the behavior of these patients. In this document, an analysis is made of the alteration of the communication pathways of the gut-brain axis, the influence that dysbiosis exerts on them, and how the modulation of the intestine can be beneficial to the patient with autism spectrum disorder.

**Keywords:** Autism, microbiota, microbiome, dysbiosis, gut-brain axis, gut, neurodevelopment.

## **Lista de Abreviaturas**

**ACh** – Acetilcolina

**ACTH** – Hormona Adrenocorticotrófica

**AGCC** – Ácidos Gordos de Cadeia Curta

**BDNF** – Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro (do inglês, *Brain-derived neurotrophic factor*)

**BHE** – Barreira Hematoencefálica

**CLDN** – Proteínas Claudinas

**CNV** – Variações no número de cópias (do inglês, *Copy number variations*)

**CRH** – Hormona Libertadora da Corticotrofina

**CYP** – Citocromo P450

**DA** – Dopamina

**FOS** – Frutooligossacarídeos

**GABA** – Ácido Gama-aminobutírico

**GI** – Gastrointestinais

**GOS** – Galactooligossacarídeos

**GST** – Glutathione S-transferases

**HPA** – Hipotálamo-Pituitária-Adrenal

**HPHPA** – Ácido 3-(3-hidroxifenil)-3-hidroxiopropiónico

**IL** – Interleucina

**LPS** – Lipopolissacarídeos

**MMP** – Metaloproteínase da Matriz

**NA** – Noradrenalina

**NMDA** – N-metil-D-Aspartato

**OMS** – Organização Mundial de Saúde

**P-cresol** – Para-cresol

**PAR** – Recetor Pregnano X Hepático

**PEA** – Perturbações de Espectro do Autismo

**PMAPs** – Padrões Moleculares Associado a Patogéneos

**Poly I:C** – Ácido Poliinosínico/policitidílico

**SNA** – Sistema Nervoso Autonómico

**SNC** – Sistema Nervoso Central

**SNE** – Sistema Nervoso Entérico

**SSRI** – Inibidores Seletivos da Recaptação da Serotonina (do inglês, *Selective Serotonin-Reuptake Inhibitor*)

**SULT** – Sulfotransferase

**TLR** – Recetores do tipo Toll (do inglês, *Toll-Like Receptors*)

**TMF** – Transplante da Microbiota Fecal

**TNF- $\alpha$**  – Fator de Necrose Tumoral alfa (do inglês, *Tumor necrosis factor  $\alpha$* )

**Treg** – Células T reguladoras

**TSPO** – Proteína Translocadora

**UGT** – Uridina 5'-difosfo-glucuronosiltransferase

## I. Introdução

As Perturbações do Espectro do Autismo (PEA), que compreendem um conjunto de distúrbios do neurodesenvolvimento, têm apresentado um aumento de incidência ao longo dos últimos anos. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que atualmente 1 em cada 160 crianças possui PEA <sup>1</sup>. Esta doença não tem apenas uma causa, ocorrendo devido à interação entre fatores genéticos e ambientais <sup>1</sup>, que culminam num déficit do desenvolvimento cerebral. Simultaneamente, a microbiota intestinal tem sido apontado como causa de outras doenças, como a doença de Alzheimer, doença de Parkinson, Diabetes *mellitus* tipo 2, Depressão, Ansiedade, e mais recentemente, Autismo <sup>2</sup>.

Nos indivíduos diagnosticados com PEA, é comum verificarem-se sintomas como diarreia, obstipação, dor abdominal, flatulência, vômitos e dificuldades em praticarem uma alimentação normal, sendo que a prevalência de sintomas gastrointestinais (GI) pode ir de 9 a 84%, e a sua presença pode estar relacionada com a severidade de PEA <sup>2</sup>. A relação entre o diagnóstico de PEA e a manifestação frequente dos sintomas GI, suscita a possibilidade de uma ligação entre o intestino e o cérebro, que pode ser explicada através do eixo intestino-cérebro. Este eixo permite a comunicação bidirecional entre a microbiota e o sistema nervoso central (SNC), através de vias imunológicas, metabólicas, neuronais e neuroendócrinas <sup>3</sup>.

Devido à crescente evidência de que os microrganismos, que habitam no intestino, têm um papel no correto estabelecimento das funções metabólicas, imunológicas e neuronais, se houver alterações significativas na normal composição da microbiota, ou seja, disbiose intestinal, a saúde geral do indivíduo pode ficar comprometida <sup>4</sup> e, neste caso específico, levar ao aparecimento de PEA. Está comprovado que as crianças autistas com sintomas GI apresentam uma microbiota com composição distinta das restantes crianças saudáveis <sup>5</sup>, e ainda, estudos com murganhos *germ free*, ou seja, desprovidos de qualquer tipo de microrganismos intestinais, estão associados a alterações na expressão génica, síntese e libertação de neurotransmissores, função imune e metabólica, em conjunto com comportamento social modificado <sup>6</sup>. Apesar de ainda não estar completamente provada a relação causal entre os sintomas GI e o desenvolvimento de PEA, a presença destes sintomas já é considerado um dos possíveis fenótipos desta patologia <sup>2</sup>.

Nesta monografia, em primeiro lugar, é feita uma contextualização e caracterização das PEA e da importância da microbiota intestinal para o humano. De seguida, é abordada a influência que a disbiose intestinal apresenta na génese das PEA, fazendo referência às hipóteses apresentadas, até ao momento, na literatura científica. Adicionalmente, e seguindo

sempre como linha de orientação a relevância que o intestino pode ter nesta patologia, serão abordadas as terapêuticas que podem contribuir para o alívio da sintomatologia associada.

## **2. Perturbações do Espectro do Autismo – Breve caracterização**

As PEA correspondem a um conjunto de doenças que afetam o neurodesenvolvimento, presentes desde a infância, e com impacto significativo no desenvolvimento social e cognitivo <sup>7</sup>. Este conjunto, frequentemente designado de autismo, comporta um vasto leque de situações clínicas heterogêneas, bem como de severidades, sendo por isso difícil atribuir uma definição concreta à doença em si <sup>8</sup>.

### **2.1. Etiologia**

Quanto à etiologia subjacente, esta permanece ainda pouco clara nos dias de hoje, assumindo-se como complexa e multifatorial, com uma forte predisposição genética, devido à existência de vários genes associados (sendo reconhecida como poligénica) <sup>9</sup>. Pode ainda ser precipitada por fatores externos, como é o caso de infeções maternas, dieta, tipo de parto, entre outras, tendo, na maioria dos casos, uma origem idiopática <sup>10</sup>.

Ao longo dos anos, tem-se observado um aumento progressivo do número de crianças diagnosticadas com PEA. Este acréscimo de casos não é necessariamente devido a um aumento de incidência da patologia, podendo estar relacionado com o facto de haver uma maior informação acerca de PEA e uma maior capacidade de diagnóstico <sup>9</sup>, no entanto, não pode ser descartado o facto de haver uma maior influência de fatores ambientais que podem induzir também o seu desenvolvimento, fatores esses que podem estar diretamente relacionados com o intestino <sup>9</sup>.

### **2.2. Características clínicas**

A apresentação clínica dos indivíduos que manifestam a doença pode ser muito variada, quer seja referente ao tipo de comportamento, severidade ou resposta aos tratamentos <sup>11</sup>. As PEA são caracterizadas por um défice na comunicação e na interação social, como exemplo, dificuldade em estabelecer relações interpessoais, desenvolvimento anormal da linguagem, reduzida empatia e dificuldade no ajuste dos comportamentos <sup>7, 9, 10</sup>. Tipicamente, estes indivíduos apresentam comportamentos estereotipados e repetitivos <sup>9</sup>. Podem ainda apresentar um diâmetro e volume do cérebro maiores que o normal e uma diminuição da fixação do olhar <sup>7</sup>. Outras situações clínicas concomitantes, bastantes comuns em indivíduos portadores de PEA, incluem epilepsia, ansiedade, défice de atenção, hiperatividade e outros

distúrbios genéticos<sup>9, 12</sup>. Em geral, esta patologia é cerca de quatro vezes mais comum no sexo masculino<sup>8</sup>. A idade de manifestação dos sintomas não é a mesma em todos os casos, no entanto, o mais comum é ocorrer por volta dos 2 anos de idade<sup>7</sup>, sendo o sintoma mais evidente o anormal desenvolvimento de linguagem e de outros elementos de comunicação.

### **2.3. Fisiopatologia**

Como referido anteriormente, as PEA podem ter diversas causas. A ocorrência da doença encontra-se associada a cerca de uma centena de genes, e outros tantos associados ao aumento de suscetibilidade para a mesma<sup>13</sup>. Suspeita-se que os genes envolvidos na plasticidade sináptica e no desenvolvimento do cérebro, *in utero* e na infância, sejam os mais afetados quando há diagnóstico de PEA<sup>10</sup>. Atualmente, as teorias mais amplamente aceites referem a ocorrência de mutações de novo<sup>14</sup>, síndromes genéticas (por exemplo, síndrome do X frágil)<sup>10</sup>, anomalias cromossómicas<sup>9</sup>, variações do número de cópias (CNVs)<sup>9</sup>, e fatores externos, que iram ser explicados mais à frente<sup>15</sup>.

## **3. Caracterização da Microbiota Intestinal**

### **3.1. Microbiota e Microbioma Intestinal**

O organismo humano é habitado por um considerável número de microrganismos que formam a microbiota. Esta não é só constituída por bactérias, também inclui fungos, vírus, leveduras, *Archaea* (seres vivos unicelulares) e *Eukarya* (eucariotas)<sup>2</sup>, perfazendo uma quantidade de aproximadamente 1000 espécies diferentes<sup>10</sup>. Por outro lado, temos o conceito de microbioma, compreende o genoma bacteriano em conjunto com as atividades metabólicas realizadas pelos microrganismos. A microbiota intestinal é um sistema dinâmico, com elevada variabilidade inter e intrapessoal e muito dependente de outros fatores, sejam eles externos, como o ambiente ou dieta, e internos, como genética e idade<sup>16</sup>. Está presente durante toda a vida, e pode interferir com o desenvolvimento fisiológico e imunológico<sup>17, 18</sup>.

Atualmente sabe-se que a microbiota começa a desenvolver-se ainda durante a gestação, através da transmissão vertical de alguma da microbiota materna<sup>4</sup>. Os primeiros colonizadores têm a capacidade de afetar a expressão dos genes do hospedeiro, bem como, afetar a subsequente instalação de novas bactérias<sup>17</sup>. A microbiota sofre uma evolução até se estabelecer, por volta dos dois a três anos<sup>4</sup>, apresentando nesta etapa bactérias dos filos Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria e Verrucomicrobia<sup>2, 19</sup>. Até esta idade, aproximadamente, é considerado o período mais crítico para a ocorrência de alterações na microbiota que possam pôr em causa o normal desenvolvimento da mesma. Curiosamente,

é também nesta janela temporal que se encontra o período mais crítico do desenvolvimento cerebral, com o aparecimento de novas sinapses e crescimento do cérebro, fazendo com que possíveis alterações na microbiota da criança, precipitadas por stress materno pré-natal, infecções ou dieta, possam levar ao aparecimento de problemas no neurodesenvolvimento <sup>4, 10</sup>.

### **3.2. Importância da Microbiota Intestinal**

As bactérias que habitam no intestino têm funções de carácter muito importante para o ser humano, interferindo com o desenvolvimento estrutural e metabólico do trato GI e sistema imunitário, bem como, regulam o desenvolvimento cerebral do hospedeiro <sup>20</sup>.

Formam uma barreira contra microrganismos externos, e potencialmente patogénicos <sup>21</sup>. Auxiliam na manutenção das características estruturais do trato GI, através da conservação das junções de oclusão entre as células e promoção da angiogénese, protegendo da passagem descontrolada de antígenos e de outros metabolitos derivados dos microrganismos <sup>21, 22</sup>.

Possuem enzimas capazes de sintetizar metabolitos, como os ácidos gordos de cadeia curta (AGCC), ácido butírico, ácido propiónico e ácido acético, através de fermentação de hidratos de carbono não digeríveis, provenientes da alimentação <sup>21</sup>. Estes têm diversas funções específicas, como produção de energia para as células, controlo de funções imunes, produção de hormonas, lipogénese, homeostasia da glucose, regulação dos processos celulares, manutenção da morfologia e função do intestino <sup>21, 23, 24</sup>. O tipo e quantidade de AGCC é ditado pela composição da microbiota. O ácido butírico é o AGCC com maior destaque. Apresenta propriedades anti-inflamatórias, previne a translocação bacteriana através do epitélio, potenciado a função barreira, melhora as junções de oclusão e a síntese de mucina <sup>21</sup>, melhora a sensibilidade e motilidade intestinais, modula a biossíntese de catecolaminas e neurotransmissores pelo SNC e sistema nervoso entérico (SNE), promove a plasticidade neuronal e formação adequada da memória e é substrato para a produção de energia <sup>1, 10</sup>. Este metabolito promove ainda a tolerância aos microrganismos comensais presentes na microbiota, através de produção das células T reguladoras (Treg), que contribuem para a manutenção da tolerância imunitária <sup>1</sup>. Os microrganismos intestinais têm ainda a capacidade de produzir vitamina B12, e outros nutrientes como o ácido fólico, vitamina K, biotina, etc. <sup>21</sup>.

A microbiota intestinal tem sido apontada como um mediador de interações neuroimunes, tendo capacidade de modular a imunidade inata e adaptativa do hospedeiro <sup>13</sup>. O desenvolvimento de um sistema imune competente está dependente da existência de uma microbiota saudável, evidenciado pelos estudos realizados em murganhos *germ free*, em que a atividade imune é bastante limitada <sup>25</sup>.



A produção de neurotransmissores, é também, uma das funções que a microbiota intestinal desempenha. Determinados microrganismos têm a capacidade de produzir diretamente neurotransmissores, que depois vão entrar na circulação sanguínea e desempenhar funções nos processos neuronais. Por exemplo, o neurotransmissor ácido gama-aminobutírico (GABA) é produzido por *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* spp<sup>1, 10</sup>; a acetilcolina (ACh) é produzida por *Lactobacillus*<sup>1, 2</sup>; *Bacillus* produzem dopamina (DA)<sup>2</sup>; *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia* e *Enterococcus* produzem serotonina, a partir do triptofano<sup>2, 10</sup>; *Escherichia*, *Saccharomyces* e *Bacillus* produzem noradrenalina (NA)<sup>2</sup>. A microbiota intestinal consegue ainda influenciar indiretamente a produção de neurotransmissores através da modulação de vias bioquímicas do hospedeiro<sup>26</sup>.

As bactérias presentes na microbiota exercem ainda um papel fundamental na absorção de nutrientes e destoxificação de xenobióticos<sup>27</sup>.

## **4. Disbiose Intestinal**

### **4.1. Definição e causas associadas**

Disbiose consiste num desequilíbrio na normal composição da microbiota, nomeadamente entre os microrganismos comensais e os patogénicos<sup>1</sup>. Não existe uma composição definida para uma microbiota saudável, sendo que a estabilidade e diversidade são os fatores que contribuem para um estado pleno de saúde<sup>19, 25</sup>. Hoje em dia sabe-se que os fatores que podem afetar o microbioma intestinal, e causar um estado de disbiose, são variados e, apesar de todos terem bastante importância na compreensão da gênese da disbiose, nesta revisão vamos apenas focar-nos nos que podem ter influência no desenvolvimento de PEA.

#### **4.1.1. Tipo de parto**

No parto vaginal, o bebé vai adquirir os microrganismos que colonizam a vagina e a zona do ânus, como é o caso de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* e *Prevotella*, por outro lado, se for cesariana então vai adquirir os microrganismos da pele e do ambiente hospitalar, que são maioritariamente *Staphylococcus*, *Escherichia coli* e *Clostridium difficile*<sup>10</sup>. Inclusive, tem sido notória uma maior probabilidade de desenvolver PEA em partos por cesariana em comparação com o parto vaginal<sup>2</sup>. Para além disto, bebés prematuros possuem menor diversidade de microbiota, bem como maior probabilidade de ter espécies patogénicas, nomeadamente, níveis aumentados de *Enterococcus* e *Proteobacteria*, e menor *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*<sup>4, 10</sup>.

#### 4.1.2. Dieta

A dieta pode, não só, modular os microrganismos presentes no intestino, como alterar a expressão génica do hospedeiro <sup>28</sup>. As dietas tipicamente ocidentais, ricas em proteína animal, açúcares e gordura, mas pobres em fibra, revelam aumento das espécies dos filos Firmicutes e Proteobacteria, e favorecem a obesidade e diabetes gestacional, o que por sua vez também facilita o desenvolvimento de PEA <sup>23</sup>. Os alimentos muito processados industrialmente, são potenciadores de alterações na composição da microbiota e pensa-se que possam ter impacto na destruição das junções das células entéricas, aumentando a permeabilidade, o que potencia as reações imunológicas <sup>13,24</sup>. No que toca à alimentação pós-natal, os bebés que são alimentados por amamentação, vão ter contacto com centenas de espécies que estão contidas no leite materno, bem como, moléculas com função prebiótica, como oligossacáridos complexos e, assim, estimular o crescimento de espécies diferenciais e benéficas, associado a uma maior diversidade da microbiota <sup>4</sup>. As crianças alimentadas por leite de fórmula têm presente uma maior quantidade da espécie *C. difficile*, caracteristicamente aumentada nesta patologia, e associada ao desenvolvimento de diversos sintomas GI <sup>2,10</sup>. O tipo de dieta pode então modular a seleção de bactérias que vão prosperar no intestino, e assim, influenciar a produção de metabolitos que vão ter efeitos a nível fisiológico <sup>2</sup>.

#### 4.1.3. Infecções maternas

A presença de infeções maternas está associada a uma maior percentagem de crianças com PEA, especialmente se ocorrerem em períodos críticos do desenvolvimento fetal. Estudos em murganhos, que nasceram de fêmeas sujeitas à administração de ácido poliinosínico/policitidílico (poly I:C), com o objetivo de induzir um estado de infeção viral, revelaram comportamentos típicos de PEA, como défice na comunicação, comportamentos repetidos, ansiedade, aumento da permeabilidade intestinal, bem como, disbiose intestinal <sup>29</sup>. Nesta última, verificaram-se alterações semelhantes às encontradas na microbiota fecal de crianças com PEA, nomeadamente nas classes *Clostridia* e *Bacteroidia* <sup>25,29</sup>. Foi ainda verificada a presença de um ambiente pró-inflamatório, com níveis elevados de interleucina (IL)-6 e IL-17A <sup>29</sup>. A IL-6 está associada à alteração da expressão das proteínas das junções oclusivas, tendo repercussões a nível da permeabilidade intestinal, infiltração de células inflamatórias e aparecimento de comportamentos estereotipados <sup>10</sup>.

#### 4.1.4. Fármacos

Desde cedo se reconheceu que os antibióticos, como grupo farmacológico, apresentam a nível intestinal diversos efeitos secundários. Estudos revelam que as crianças que

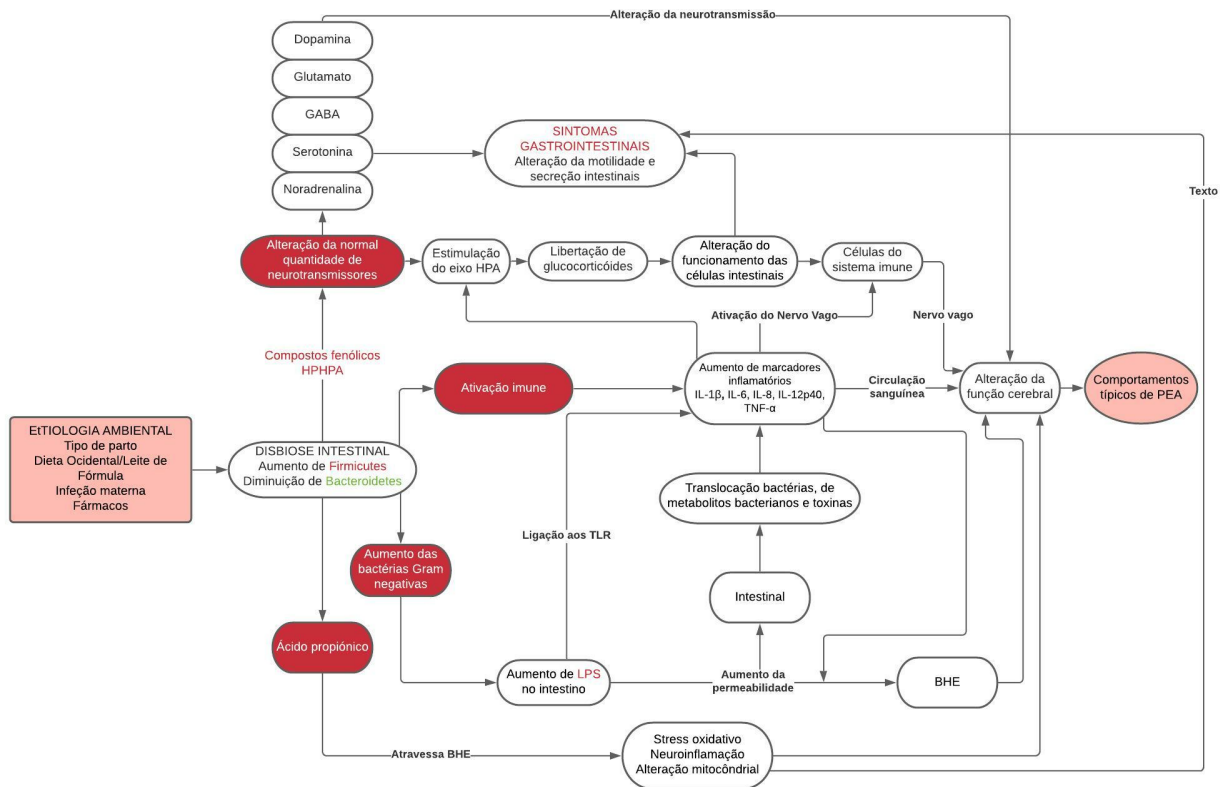
tomam medicamentos nos 3 primeiros anos de vida, desenvolvem uma microbiota com menor diversidade e composição distinta dos restantes <sup>13, 23</sup>, o que pode originar fenótipos que permanecem o resto da vida, por exemplo, obesidade <sup>2</sup>, ou ainda sintomas GI recorrentes <sup>30</sup>. A forma como estes podem induzir danos depende da microbiota original aquando da toma destes medicamentos, duração e tipo de antibiótico <sup>28</sup>, e ocorre por três mecanismos essenciais: Eliminação de microrganismos essenciais para homeostase intestinal <sup>2</sup>, reforço da resistência bacteriana aos antibióticos e promoção da proliferação de patogénicos oportunistas <sup>30, 28</sup>. Existem ainda antibióticos que têm efeitos neurotóxicos intrínsecos <sup>30</sup>. O uso excessivo de antibióticos pode levar a um crescimento descontrolado de estirpes, como é o caso de *C. difficile* <sup>1, 2</sup>. Assim, o uso de antibióticos, tanto durante a gravidez, como em idades precoces pode aumentar o risco de desenvolvimento de PEA <sup>2</sup>.

O ácido valpróico (fármaco usado no tratamento de epilepsia), é outro dos fármacos que apresenta uma influência bastante nefasta na microbiota dos bebés, aquando da administração materna. Estudos em animais revelaram que após a administração deste às fêmeas grávidas, os recém-nascidos apresentam inflamação no trato GI, disbiose intestinal (aumento de Firmicutes e diminuição de Bacteroidetes) e comportamentos típicos de PEA <sup>19, 29</sup>.

A toma de medicamentos, principalmente os referidos anteriormente, pode ter como consequência a deterioração da microbiota, com efeitos a longo prazo, comprometendo a colonização de bactérias benéficas.

#### **4.2. Papel da Disbiose Intestinal na Fisiopatologia do Autismo**

A principal teoria para a relação entre a disbiose intestinal e o aparecimento de PEA é a ocorrência de desregulação do sistema imune e instalação de um estado de inflamação. Isto pode acontecer por diversos mecanismos (Figura 1), os quais irei explicar daqui em diante.



**Figura 1** – Papel da disbiose intestinal, provocada pelos fatores ambientais, na fisiopatologia de PEA (Adaptado de 25).

#### 4.2.1. Composição alterada da Microbiota Intestinal

Apesar da existência de disbiose intestinal estar bem documentada nestes indivíduos, não existe ainda um padrão bem definido dos microrganismos para esta patologia. Os próprios microrganismos têm a capacidade de influenciar diversas funções fisiológicas do intestino<sup>14</sup>, como estes estão alterados, também as funções normais podem estar alteradas.

As alterações que mais se verificam na composição da microbiota indicam que a razão Bacteroidetes/Firmicutes está diminuída nas fezes das crianças autistas, quando comparada com os indivíduos saudáveis<sup>1, 10, 14</sup>. É comumente observado que há um aumento das bactérias do filo Firmicutes, por exemplo *Clostridium* spp e *Faecalibacterium* spp, e do filo Proteobacteria, como *Desulfovibrio* e *Sutterella*. Simultaneamente, ocorre uma diminuição de Bacteroidetes, mais frequentemente *Prevotella*, e também *Bifidobacterium*, *Fusobacteria* e *Verrucomicrobia*,<sup>10</sup>. Existe uma relação entre o género *Bifidobacterium*, que tem uma ação anti-inflamatória, e os géneros *Clostridium* e *Desulfovibrio* que, em oposição, têm uma ação pró-inflamatória. O género *Desulfovibrio* está associado à severidade dos sintomas sentidos em PEA, pois contribui para a inflamação do trato GI através da produção de um metabolito, sulfeto de hidrogénio, que é citotóxico para as células epiteliais<sup>1</sup>. As bactérias *Clostridium* estão praticamente sempre aumentadas nas fezes de crianças com PEA. Têm a capacidade de

produzir toxinas que exercem efeitos neurotóxicos e estão distintamente associadas à presença dos sintomas GI <sup>1, 10, 19</sup>. A sua redução está associada a melhorias comportamentais <sup>19</sup>. A abundância do género *Lactobacillus* (benéfico para o hospedeiro) não apresenta consenso. A sua diminuição pode estar implicada no aumento de permeabilidade, pois esta bactéria tem relevância na manutenção das junções de oclusão das células epiteliais <sup>10, 25</sup>. No entanto, por vezes são detetados níveis mais elevados nestes indivíduos, o que pode ser resultado do tipo de dieta <sup>2</sup>. A diminuição de *Prevotella*, *Coprococcus* e *Veillonellaceae* é preocupante pois estas bactérias são responsáveis pela fermentação de hidratos de carbono não digeríveis <sup>1, 13, 14</sup>. Algumas espécies estão associadas a sintomas GI específicos, como a obstipação que se verifica frequentemente na presença dos géneros *Escherichia*, *Shigella* e *Clostridium* <sup>19</sup>. Uma vez que no intestino não habitam exclusivamente bactérias, também foi possível averiguar, em alguns estudos, que existem crianças com PEA que têm níveis aumentados de *Candida albicans* <sup>1</sup>. Esta tem influência sobretudo a nível imunológico, provocando infeções que ativam as células Th17, levando à produção de IL-17, citocina que está implicada na etiologia de PEA em modelos animais <sup>1</sup>. Para além disto, este fungo está associado a uma maior produção de serotonina a nível intestinal, o que leva a hiperserotoninémia, e também liberta amónia e outras toxinas, tendo como consequência problemas a nível do neurodesenvolvimento e alguns sintomas GI, já descritos <sup>19, 23, 25</sup>.

De um modo geral, a diminuição da diversidade da composição da microbiota está relacionada com a severidade dos sintomas experienciados pelos indivíduos com PEA, e a qualidade dos microrganismos que compõem a microbiota intestinal pode ser indicativo do tipo de fenótipo, saudável ou autista <sup>10</sup>.

#### **4.2.2. Eixo Intestino-Cérebro**

O Eixo Intestino-Cérebro, tem o objetivo de regular processos funcionais do organismo humano. Devido a esta interligação, qualquer alteração que ocorra a nível intestinal pode refletir-se no sistema cerebral. Partindo desta ideia, a maturação do cérebro requer múltiplas cascatas de sinalização que são reguladas por sinais externos e internos, um deles o intestino, através deste eixo. O SNC regula a homeostasia e a função do intestino e, inversamente, a microbiota intestinal participa no controlo das funções do SNC, nomeadamente no desenvolvimento e progressão de doenças neurológicas.

##### **4.2.2.1. Disfunção da Barreira Intestinal**

Um dos fenómenos verificado em indivíduos com PEA e disbiose é o aumento da permeabilidade, devido a disrupção da função barreira do intestino, fenómeno conhecido

como “leaky gut”<sup>19</sup>. Perante disbiose intestinal, verifica-se uma diminuição das proteínas das junções de oclusão, que mantêm a barreira funcional, aumento das proteínas formadoras de poros<sup>31</sup> e aumento das bactérias Gram-negativas (produtoras de lipopolissacarídeos (LPS) e citocinas pró-inflamatórias)<sup>10, 23</sup>. Ao ser permitida a translocação de toxinas, como LPS, bactérias e citocinas pró-inflamatórias a nível intestinal, é promovida a ativação do sistema imune e indução de um estado de inflamação sistémico, seguido da passagem dos mesmos pela barreira hematoencefálica (BHE), também esta mais permissiva<sup>10, 25</sup>. Esta cadeia de eventos vai proporcionar uma neuroinflamação persistente, e ter consequências na função cerebral, que por sua vez se manifestam em comportamentos sociais prejudicados<sup>23, 25, 32</sup>. Também se verifica um aumento da proteína zonulina que afeta a integridade das junções de oclusão presentes na barreira intestinal<sup>13</sup>. O aumento da permeabilidade intestinal, em conjunto com outros fatores, é uma das causas que mais contribui para o desenvolvimento desta doença<sup>10</sup>.

A composição da microbiota também tem influência na integridade da BHE, uma vez que a exposição a uma inflamação sistémica, durante as fases importantes do neurodesenvolvimento, promove o aumento da sua permeabilidade<sup>33</sup>. Algumas das modificações na BHE, decorrentes das alterações na microbiota, são a alteração das proteínas claudinas (CLDN), nomeadamente CLDN-5 e CLDN-12, importantes nas junções oclusivas da BHE no córtex e cerebelo<sup>10</sup>. Verifica-se que a expressão génica dos componentes das junções de oclusão está aumentada em crianças com PEA, revelando a possível ocorrência de um mecanismo compensatório, resultante da diminuição da integridade da BHE<sup>10, 31</sup>. Em adição, a metaloproteinase da matriz (MMP)-9, também se encontra super-expressa, sendo que o seu aumento está associado à disrupção da BHE e neuroinflamação. De referir ainda o aumento da expressão de uma proteína translocadora da membrana mitocondrial (TSPO) na microglia e astrócitos reativos, indicando, também, neuroinflamação e lesão cerebral<sup>31</sup>.

Estas alterações estão comprovadas em murganhos *germ free* que possuem uma BHE bastante deficiente, devido à redução das junções endoteliais, potenciada pela falta de microbiota, o que aumenta a permeabilidade nesta barreira<sup>34</sup>.

#### 4.2.2.2. Desregulação Imune

A microbiota tem a capacidade de influenciar o grau de inflamação que ocorre no SNC, através da modulação das respostas pro e anti-inflamatórias<sup>20</sup> e por isso, a perda de equilíbrio da microbiota origina processos inflamatórios que vão culminar em disfunção imune<sup>2</sup>. Como referido anteriormente, a passagem de metabolitos, por exemplo LPS, através da barreira intestinal permeável provoca ativação do sistema imune, o que induz um estado inflamatório.

Perante esta situação, é estimulada a libertação de citocinas, quimiocinas e outros fatores inflamatórios, que vão ter a capacidade de ativar o nervo vago<sup>2</sup>, que por sua vez, vai modular o SNC, e assim, influenciar a neurodesenvolvimento do hospedeiro, quando ocorre em fases precoces do desenvolvimento<sup>2, 13</sup>. Em crianças com PEA e sintomas GI, é recorrentemente verificado que possuem na corrente sanguínea e fluidos cerebrais níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-12p40, e também o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), o que está relacionado com a severidade da doença<sup>2, 13, 25, 35</sup>.

Um dos componentes mais importantes para a ocorrência respostas imunes potenciadas pela microbiota são os *toll-like receptors* (TLR), que existem nas células do sistema imune inato, células epiteliais intestinais e neurónios do SNC e SNE e reconhecem moléculas da microbiota<sup>25</sup>. Os LPS, por exemplo, ligam-se aos TLR dos neurónios do SNE, e é estimulada a produção de citocinas pró-inflamatórias, que não só são libertadas localmente, mas também alcançam a corrente sanguínea, e distribuem-se sistemicamente<sup>20, 25</sup>. Por outro lado, aquando da ligação das citocinas pró-inflamatórias aos TLR, ocorre alteração do potencial das membranas neuronais, o que pode ter como consequência alterações a nível do comportamento e humor, potenciando a ocorrência de comportamentos típicos de PEA<sup>25</sup>.

A ocorrência de PEA, tem sido associada à ativação desregulada da microglia e astrócitos. A microglia desempenha funções como fagocitose, apresentação de antigénios, produção de citocinas e ativação de respostas inflamatórias<sup>20</sup>. Tanto pode ter um papel protetor como pró-inflamatório, e por isso pode condicionar o neurodesenvolvimento<sup>20</sup>. Em modelos de estudo animal, decorrente da entrada de microrganismos, toxinas ou metabolitos para a corrente sanguínea, há ativação da microglia, que culmina na ocorrência de uma inflamação que, por sua vez, prejudica a normal formação das sinapses, provocando défices cognitivos e comportamentais semelhantes aos de PEA<sup>36</sup>, e promove a libertação de vasopressina, hormona importante na interação social<sup>10, 36</sup>. Quanto aos astrócitos, desempenham funções relacionadas com a regulação da integridade da BHE, equilíbrio de iões, ciclo de vida dos neurotransmissores, manutenção da corrente sanguínea cerebral, transporte de nutrientes, regulação da excitabilidade neuronal e formação de sinapses<sup>20</sup>. A nível imunológico, expressam recetores de reconhecimento de padrões moleculares associados a patogénios (PAMPs) e modulam respostas neuroinflamatórias, através da apresentação de antigénios e produção de citocinas<sup>20</sup>. Os metabolitos, produzidos de forma anormal pela microbiota intestinal, têm a capacidade de ativar os recetores dos astrócitos e, assim, modular a sua atividade<sup>20</sup>, o que pode culminar no aumento das citocinas pró-inflamatórias<sup>35</sup>. Assim,

pode-se concluir que a desregulação das células da glia está associada a desenvolvimento anormal de neurónios e sinapses e, conseqüente, pode levar ao desenvolvimento de PEA <sup>13, 35</sup>.

O desequilíbrio na composição da microbiota pode levar a respostas imunes inadequadas, pois estas podem ser moduladas por certos tipos de microrganismos. Exemplo disso é o género *Clostridium*, que está associado à ativação de células Th1 e Th17, que afetam a reatividade das células do sistema imune periférico, a integridade da BHE, induzem apoptose de oligodendrócitos e aumentam a excitotoxicidade do glutamato <sup>25</sup>.

Depois de explicada a influência que a microbiota pode ter na gênese de respostas imunológicas, como consequência das alterações GI que ocorrem nos indivíduos diagnosticados com PEA, é importante salientar que quanto mais exacerbada é a resposta imunológica, mais severos são os comportamentos observados neste tipo de doentes <sup>12</sup>.

#### 4.2.2.3. Produção de Metabolitos pela Microbiota

Os microrganismos que habitam a nível intestinal têm a capacidade de produzir inúmeros metabolitos que vão ter a capacidade de afetar a fisiologia do hospedeiro e, possivelmente, induzir estados patológicos. Com o desenvolvimento de um estado disbiótico, algumas das bactérias com efeito negativo no organismo vão estar aumentadas. A presença aumentada de certos metabolitos bacterianos, nas fezes, urina e soro, revela uma relação entre a disbiose, disfunção metabólica e permeabilidade intestinal, nestes indivíduos <sup>12</sup>. De forma análoga à disfunção imune verificada em murganhos *germ free*, também estes possuem composições distintas de metabolitos no cólon, quando comparado com os controlos <sup>37</sup>.

##### a) *Ácidos Gordos de Cadeia Curta*

Os AGCC são metabolitos produzidos pelas bactérias intestinais. Perante um estado de disbiose, está descrito que a expressão dos genes responsáveis pela fermentação e transporte de hidratos de carbono pode estar diminuída, o que leva a uma redução geral na quantidade de AGCC <sup>1, 26</sup>. Por esta razão, os hidratos de carbono vão ser seletivamente digeridos pelas bactérias mais abundantes, e por isso se verifica um aumento do ácido propiónico, relativamente ao ácido butírico <sup>10</sup>.

Devido às importantes funções do ácido butírico, explicadas anteriormente, a diminuição deste vai originar um déficit na regulação da imunidade, podendo provocar estados de inflamação <sup>1, 10</sup>.

Já o ácido propiónico, produzido por *Clostridium*, *Desulfovibrio* e *Bacteroides* <sup>2, 13, 23</sup>, tem efeitos mais negativos sobre o SNC devido às propriedades acídicas e lipossolúveis,



conseguindo atravessar tanto a mucosa intestinal, para a corrente sanguínea, como a BHE, e assim ter acesso ao SNC <sup>2</sup>. Uma vez no cérebro, tem a capacidade de induzir alterações neuroquímicas, como inibição da bomba sódio-potássio (Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase), aumento da sensibilidade aos recetores de N-metil-D-Aspartato (NMDA), alterações mitocondriais e do metabolismo de AGCC e ativação das células da glia <sup>6, 26</sup>. A acumulação de ácido propiónico nas células cerebrais vai levar a acidificação do meio intracelular, o que tem como consequência a alteração da libertação de neurotransmissores (serotonina, dopamina e glutamato), inibição das junções de comunicação e libertação de cálcio intracelular <sup>6</sup>. Todas estas alterações afetam a comunicação neuronal e a componente comportamental <sup>6</sup>. Um estudo que consistiu na administração intracerebroventricular de ácido propiónico em roedores, demonstrou que estes passaram a exibir um comportamento repetitivo e estereotipado, similar ao observado em PEA <sup>6</sup>. Os mecanismos que explicam estes comportamentos, estão também implicados, de uma forma teórica, na fisiopatologia de PEA, o que demonstra que o aumento do ácido propiónico nestes pacientes é uma das causas que leva ao desenvolvimento da doença <sup>6</sup>.

De um modo geral, podemos dizer que a produção alterada de AGCC provoca um défice na integridade estrutural da barreira intestinal e BHE, bem como das suas funções, resultando no aumento da permeabilidade da mucosa intestinal, ativação imune e ocorrência de uma reação imune no cérebro, juntamente com os sintomas GI <sup>1, 6, 27</sup>.

#### *b) Compostos Fenólicos*

Os compostos fenólicos são outros metabolitos que se encontram aumentados nestes indivíduos e que possuem efeitos negativos sobre o mesmo. O para-cresol (p-cresol), metabolito produzido por *Bifidobacterium*, *Clostridium histolyticum* e *C. difficile* encontra-se aumentado na urina e fezes de crianças autistas, juntamente com o co-metabolito p-cresilsulfato <sup>13, 27</sup>. A sua existência na corrente sanguínea, demonstra que existe permeabilidade intestinal, uma vez que este é produzido apenas no trato GI, permitindo a sua passagem e consequente disseminação pelo organismo, com potenciais efeitos neurotóxicos <sup>10</sup>. Está descrito que este se relaciona com os défices comportamentais e cognitivos de PEA, bem como com a severidade da doença, juntamente com desordens GI <sup>13, 27</sup>. Para além disto, este inibe a enzima dopamina β-hidroxilase, condicionando assim o normal metabolismo da dopamina <sup>10</sup>.

Para além dos anteriores, o género *Clostridium* produz outros metabolitos que estão caracteristicamente aumentados em crianças com PEA, como ácido 3-(3-hidroxifenil)-3-

hidroxipropiónico (HPHPA), o ácido 3-hidroxifenilacético e o ácido 3-hidroxifenílico <sup>10</sup>. O HPHPA, metabolito da fenilalanina, demonstrou ser responsável pela depleção de catecolaminas o que, uma vez mais, pode estar relacionado com os sintomas e severidade da doença <sup>10, 25</sup>. A toma de vancomicina, antibiótico com reduzida absorção através da mucosa intestinal e com efeito em bactérias Gram-positivas como *Clostridium* spp, pode reduzir a concentração destes metabolitos, o que contribui para melhorar os sintomas descritos, indicando que podem ser maioritariamente produzidos por estas bactérias <sup>10</sup>.

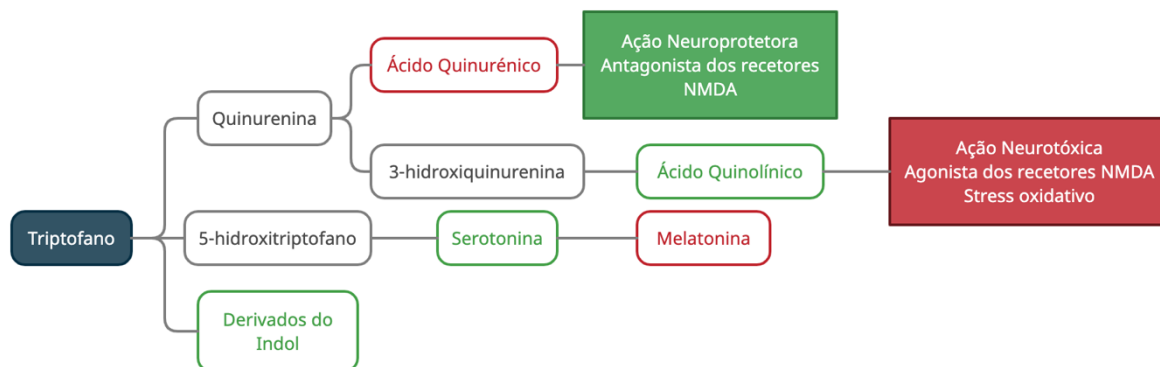
### c) Serotonina

A serotonina é um importante neurotransmissor, produzido a partir do triptofano, maioritariamente no intestino pelas células enterocromafins, mas também no cérebro, e que tem a capacidade de modular tanto as funções intestinais, motilidade, secreção e dor, como as cerebrais, regulação do humor e componente cognitiva <sup>10</sup>. A relação entre o aumento de serotonina e os sintomas GI e comportamentais já está devidamente comprovada <sup>10</sup>.

Como referido anteriormente, em PEA este neurotransmissor encontra-se frequentemente aumentado no sangue, sendo que este aumento pode ser devido a causas genéticas, imunológicas e gastrointestinais <sup>2, 13</sup>. Perante disbiose intestinal, as bactérias formadoras de esporos (*Clostridium*) produzem metabolitos que promovem a atividade das enzimas triptofano hidroxilase das células enterocromafins e, assim, levam ao aumento de produção de serotonina a nível intestinal <sup>1</sup>. O consumo do precursor triptofano no intestino, diminui a sua disponibilidade no cérebro, observando-se uma diminuição da produção de serotonina a nível cerebral, o que tem consequências a nível da cognição e humor <sup>2, 34</sup>. Isto é comprovado pela baixa concentração de serotonina no córtex pré-frontal e amígdala de murganhos sujeitos a ácido valpróico antes do nascimento <sup>34</sup>.

Numa situação normal, o triptofano é também precursor de outras moléculas (Figura 2), nomeadamente, metabolito principal ácido quinurénico (antagonista dos recetores NMDA e neuroprotetor) e ácido quinolínico. Em PEA, verifica-se que os níveis de ácido quinurénico estão diminuídos, e em oposição, o ácido quinolínico está aumentado, revelando que existem diferenças na metabolização do triptofano quando a microbiota se encontra alterada. O ácido quinolínico, produzido pelos macrófagos e microglia ativados, é um agonista dos recetores de NMDA e induz stress oxidativo nas células neuronais, o que culmina na degeneração destas e pode provocar alguns dos sintomas excitatórios observados. Em amostras de urina colhidas de crianças com PEA, estão descritos baixos níveis de melatonina e ácido quinurénico e, em oposição, elevada quantidade de ácido quinolínico <sup>1, 10, 24</sup>.

Em situação de disbiose também se verifica uma maior degradação do triptofano diretamente pelas bactérias, com produção de derivados do indol <sup>1, 10, 24</sup>.



**Figura 2** – Vias metabólicas do triptofano. As caixas verdes indicam os metabolitos que estão aumentados e as vermelhas indicam os que estão diminuídos (Adaptado de <sup>10</sup>).

#### d) Aminoácidos Livres

O metabolismo de aminoácidos livres também se encontra alterado nestes indivíduos, encontrando-se aumentado nas fezes de crianças diagnosticadas com PEA e com sintomas intestinais, comparativamente às saudáveis <sup>2</sup>. De salientar o glutamato, neurotransmissor excitatório, em que o seu aumento está associado morte das células neuronais, o que apresenta consequências a nível do desenvolvimento cerebral <sup>10, 27</sup>.

#### 4.2.2.4. Via Neuronal

A comunicação pela via neuronal é complexa. O intestino comunica com o cérebro através do SNE ou fibras aferentes do nervo vago <sup>34</sup>. Os constituintes da mucosa intestinal geram sinais que são transmitidos até ao cérebro e este vai controlar a função intestinal. Deste modo, a excitabilidade do SNE é bastante importante para o funcionamento cerebral <sup>34</sup>. A comunicação pelo nervo vago ocorre, indiretamente, através da libertação de moléculas, como os AGCC e neurotransmissores (serotonina, GABA, DA e histamina) <sup>2</sup>, pelas células intestinais sob influência da microbiota, e diretamente pela ativação dos receptores TLR que vão estimular as fibras aferentes do nervo vago <sup>1</sup>. Numa situação normal, o nervo vago vai proporcionar efeitos anti-inflamatórios, através da comunicação com outras vias, como o eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) <sup>34</sup>.

Se houver desregulação da microbiota, a produção de neurotransmissores pode ficar condicionada e, em certos casos, levar ao desequilíbrio da componente excitatória e inibitória, o que está descrito como potenciador do desenvolvimento de PEA <sup>24, 25</sup>. O mesmo se verifica para os metabolitos produzidos pelos microrganismos presentes no intestino. A diminuição

do neurotransmissor GABA, por exemplo, é comum da neurofisiologia de PEA, o que vai alterar a comunicação neuronal e levar a anomalias no comportamento <sup>2</sup>. A par com esta ideia, a estimulação anormal do nervo vago vai induzir diversos comportamentos complexos e tipicamente encontrados nos indivíduos diagnosticados com PEA, como ansiedade e stress <sup>12</sup>.

#### 4.2.2.5. Via Neuroendócrina

Esta via compreende o eixo HPA que tem como principais funções a regulação de fatores ambientais, como o stress físico e psicológico. Num estado normal, perante uma situação de stress, o hipotálamo é estimulado a libertar vasopressina e hormona libertadora da corticotrofina (CRH), as quais estimulam a produção de hormona adrenocorticotrófica (ACTH) na hipófise, que por sua vez vai estimular a libertação de cortisol pela glândula adrenal <sup>25</sup>. Este glucocorticóide atua no cérebro, tendo a capacidade de modular a atividade, entre outros órgãos e tecidos, das células intestinais, nomeadamente a motilidade, secreção e permeabilidade, e possui atividade maioritariamente anti-inflamatória, mas em determinados casos pode exercer um efeito pró-inflamatório <sup>20, 25</sup>.

A anormal produção de cortisol é a principal alteração desta via. As células intestinais estão, simultaneamente, sobre a influência da microbiota e, por isso, perante um estado de disbiose, pode ocorrer ativação imune, culminando com o aumento de citocinas pró-inflamatórias que podem atingir o cérebro, e ativar o eixo HPA <sup>25</sup>, de forma semelhante ao que se verifica nas situações de stress explicadas em cima, o que pode gerar alterações a nível da permeabilidade intestinal, produção de muco e motilidade <sup>20</sup>. As consequências que podem advir desta alteração podem ser elucidadas através dos estudos efetuados em murganhos *germ free*. Estes revelam níveis aumentados das hormonas, cortisol, ACTH e CRH, o que leva a uma resposta aumentada deste eixo e podem estar relacionados com a ocorrência de certos comportamentos típicos verificados nestes indivíduos <sup>20, 25</sup>.

## **5. Possibilidade de usar biomarcadores intestinais para diagnóstico**

Os biomarcadores são uma ferramenta com bastante interesse a nível clínico. Caracterizam-se por ser uma variável biológica de um indivíduo, que pode ser medida experimentalmente, através de métodos sensíveis, e que indica precocemente a ocorrência de uma determinada doença, a evolução da mesma, e ainda, a eficácia da terapêutica. Em PEA não é exceção, sendo sugeridos alguns biomarcadores.

A serotonina foi provavelmente o primeiro biomarcador a ser identificado como tal. Preenche os requisitos para ser um bom biomarcador pois é um neurotransmissor que está

consistentemente em níveis mais elevados nos indivíduos com PEA, bem como, tem influência conhecida no neurodesenvolvimento e nos sintomas GI. O mesmo não se verifica noutros défices cognitivos <sup>11</sup>.

O p-cresol também se encontra elevado em amostras fecais e urinárias de indivíduos com PEA, sendo interessante o seu possível uso como biomarcador desta doença. É produzido por bactérias que estão geralmente aumentadas em casos de disbiose associada a PEA, como *Clostridium* e está claramente associado à presença de comportamentos repetitivos e obstipação <sup>10, 34</sup>.

A vasopressina é um metabolito que sofre um aumento quando se verifica uma inflamação e ativação da microglia por substâncias provenientes do lúmen intestinal que atravessam a mucosa intestinal para a via sistémica. O seu característico aumento também posiciona a vasopressina como um bom candidato a biomarcador de PEA <sup>10</sup>.

## **6. Influência da Microbiota na Farmacocinética**

Atualmente sabe-se que existem diversas causas para as variações interindividuais de eficácia e toxicidade de terapias farmacológicas usadas pela população, sendo estas os fatores ambientais, fisiológicos e genéticos.

Tendo em conta os mais recentes desenvolvimentos no que toca à microbiota intestinal, uma grande questão tem sido colocada: Qual a influência que a microbiota pode ter na farmacocinética de medicamentos usados em PEA? Como descrito anteriormente, a microbiota alterada é um fenómeno comum em indivíduos portadores de PEA. Se o intestino, como vimos, pode ser uma causa raiz para o desenvolvimento da doença, também ele pode condicionar a sua evolução, e dificultar os tratamentos destes doentes. Para uma melhor compreensão desta temática, é imperativo que o intestino deva ser considerado como um sistema dinâmico, na medida em que a microbiota pode alterar os fármacos que lá chegam, mas também os próprios fármacos libertam substâncias que podem ser nefastas para os microrganismos residentes, promovendo um crescimento diferencial de bactérias, ou alterando a normal atividade destas, o que pode ter como consequência a alteração da farmacocinética <sup>28, 38</sup>.

Vários estudos comprovam a importância da microbiota na metabolização dos fármacos. Por exemplo, estudos realizados em murganhos *germ free*, comprovaram que estes eliminavam, através da via fecal, o fármaco na forma inalterada, enquanto o controlo eliminava os metabolitos resultantes da metabolização intestinal, ou de forma semelhante, ratos

previamente tratados com antibiótico também excretavam menor quantidade de fármaco na forma metabolizada <sup>39</sup>.

### **6.1. Tratamento Farmacológico em PEA**

O tratamento indicado para a PEA é baseado, sobretudo, em terapêutica comportamental e educacional, em que o recurso a fármacos tem o objetivo apenas de controlar os sintomas associados à doença. Os fármacos mais comuns para o controlo desta patologia são antipsicóticos, como a risperidona e aripiprazol (reduzem a irritabilidade, agressividade e repetição de comportamentos), antidepressivos inibidores seletivos da recaptação da serotonina (SSRI), como escitalopram, citalopram e fluoxetina (controlo da ansiedade e comportamentos estereotipados e repetitivos), o metilfenidato (estimulante para o controlo do défice de atenção e hiperatividade), a clozapina e olanzapina, antipsicóticos de segunda geração (para comportamentos agressivos e mudanças de humor, quando os anteriores não são suficientemente eficazes) <sup>40</sup>.

### **6.2. Alterações Farmacocinéticas provocadas pela Microbiota**

Os mecanismos pelos quais a microbiota pode alterar a farmacocinética são diversos, podendo ir desde a metabolização ou ligação ao fármaco que está para ser absorvido, competição dos metabolitos bacterianos com os fármacos no momento da destoxificação ou produção de metabolitos que inativam as enzimas responsáveis pela metabolização e/ou que potenciam outras enzimas que favorecem a reabsorção do fármaco <sup>39, 41</sup>.

#### **6.2.1. Interação direta da microbiota nos fármacos**

Os mecanismos diretos pela qual a microbiota vai conseguir alterar a farmacocinética estão relacionados com a própria biotransformação do fármaco em metabolitos que têm a função e duração de ação alteradas, podendo torná-los ativos, inativos ou tóxicos <sup>16</sup>. Esta metabolização pode ocorrer quando os fármacos atingem o intestino após administração oral, ou então, quando retornam ao intestino, depois da excreção biliar <sup>16</sup>. Os principais tipos de reações realizadas pela microbiota são hidrólise e redução, tornando os metabolitos produzidos a nível hepático menos polares e com menor peso molecular, o que facilita a sua reabsorção <sup>16, 41</sup>. Do lado inverso, os fármacos também interagem diretamente com a microbiota através de atividade antimicrobiana ou promoção o crescimento seletivo de certas estirpes <sup>16</sup>.

As enzimas  $\beta$ -glucuronidasas protagonizam um dos mecanismos diretos. Durante o ciclo que os fármacos sofrem no organismo, após exercerem a sua ação, vão sofrer

metabolização, que pode ser realizada pela adição de ácido glucurónico no fígado, tornando-os mais solúveis e com maior peso molecular, para a posterior eliminação na urina ou fezes<sup>16</sup>. A enzima  $\beta$ -glucuronidase está presente em algumas bactérias intestinais humanas e, como o nome indica, executam reações de quebra do ácido glucurónico do xenobiótico, retornando o fármaco ao estado ativo, aumentando a sua toxicidade. A inibição desta enzima pode ser benéfica a prevenir a toxicidade induzida por este mecanismo<sup>16, 39</sup>.

A risperidona, por exemplo, sofre uma metabolização direta pela microbiota, nomeadamente, uma cisão do anel isoxazol<sup>39</sup>. É possível concluir que a metabolização da risperidona ocorre no lúmen intestinal, pela ação das bactérias da microbiota, pois os seus metabolitos apenas são encontrados nas fezes, e não no conteúdo biliar<sup>42</sup>. O anel aromático benzisoxazol sofre um ataque por parte das bactérias intestinais, promovendo a cisão do anel isoxazol do anel benzeno. Esta cisão pode influenciar a ação farmacológica que iria ser desempenhada pela risperidona, pois a sua biodisponibilidade fica condicionada<sup>42</sup>.

De notar, muitas das reações possíveis pela microbiota acabam por não ter grande expressão na alteração da toxicidade/farmacocinética dos fármacos, o que pode ser devido a diversas razões, mas a mais importante será porque a maioria dos fármacos sofrem absorção no intestino delgado e a microbiota encontra-se mais concentrada no colón. Apenas os fármacos que têm baixa absorção intestinal, características mais lipofílicas ou libertação prolongada acabam por chegar a esta porção do intestino<sup>38, 39, 43</sup>.

### **6.2.2. Interação indireta da microbiota nos fármacos**

O mecanismo indireto de alteração da farmacocinética, por parte da microbiota intestinal, está mais relacionado com uma série de interações complexas entre os microrganismos e o hospedeiro. Estas podem ocorrer através da produção de metabolitos microbianos que podem afetar as vias de transporte e metabolização dos fármacos, ou então, alteração dos metabolitos do hospedeiro pela microbiota<sup>16</sup>.

O metabolismo microbiano de compostos endógenos e da dieta, que atingem o intestino, gera moléculas que têm a capacidade de modular indiretamente as principais enzimas hepáticas do hospedeiro que, por sua vez, são responsáveis pelo metabolismo de fármacos<sup>41</sup>. As moléculas envolvidas são sobretudo ácidos biliares, hormonas esteroides, compostos urémicos e bilirrubina<sup>41</sup>, e conseguem modular a farmacocinética através de afetarem a expressão génica, ou seja, o mRNA, das enzimas responsáveis pela metabolização de fármaco, enzimas de fase I, citocromo P450 (CYP), e de fase 2, glutathione S-transferase (GST), uridina 5'-difosfo-glucuronosiltransferase (UGT) e sulfotransferase (SULT), e transportadores, quer

localmente no intestino ou nível mais sistêmico, no fígado <sup>16, 39, 41</sup>. Estudos efetuados em murganhos *germ free*, demonstram que uma série de enzimas de fase I e fase 2 estão alteradas, mais concretamente, apresentam níveis mais baixos de CYP3A, um dos principais metabolizadores de fármacos <sup>39</sup>, revelando que a microbiota intestinal tem relevância na expressão destas enzimas. Estas variações podem ser atribuídas tanto à componente genética, como à própria microbiota <sup>39</sup>. Com a administração de antibióticos, como a ciprofloxacina, há diminuição das bactérias produtoras de ácidos biliares que ativam o recetor pregnano X hepático (PAR), que por sua vez regula a expressão de CYP3A ficando, assim, a atividade deste último diminuída <sup>44</sup>. No entanto, não é só o humano que possui estas enzimas, também as bactérias, e neste caso as bactérias intestinais, possuem esta família de enzimas. O CYP nas bactérias, pode ser variável quer em número, função e tipo de substrato <sup>28</sup>. No caso específico das PEA, é necessário fazer mais estudos de modo a perceber se variações na abundância ou função das bactérias que possuem estas enzimas pode originar problemas farmacocinéticos que condicionem a uma adequada resposta farmacológica, e assim, conseguir proporcionar uma terapêutica personalizada a cada doente <sup>43</sup>.

A microbiota também consegue alterar o metaboloma do hospedeiro de duas maneiras principais: (a) altera a abundância dos metabolitos produzidos pelo próprio humano; (b) contribui com compostos microbianos únicos para a circulação sistêmica <sup>16</sup>. De um modo geral, alguns dos metabolitos que microbiota produz são metabolizados pelos mesmos mecanismos que os fármacos, o que pode imediatamente condicionar a normal metabolização dos fármacos <sup>16</sup>. Por exemplo, o p-cresol, metabolito cuja concentração, por norma, está aumentada em PEA, é metabolizado pelas mesmas enzimas que metabolizam o paracetamol. A competição entre as duas moléculas impede a metabolização do paracetamol, contribuindo para a sua toxicidade <sup>16</sup>. De modo semelhante, a metabolização de fármacos usados no controlo sintomático das PEA podem estar condicionadas por mecanismos semelhantes, principalmente num estado de disbiose intestinal, em que a contribuição de metabolitos bacterianos pode ser maior, sendo necessário também uma maior compreensão futura desta possível via de alteração da farmacocinética.

## **7. Intervenções na Microbiota**

Ao longo desta monografia, demonstrei a influência que o intestino pode exercer na génese desta patologia e, tendo em conta a ligação entre a microbiota e o cérebro, é de extrema importância explorar os benefícios que as intervenções na microbiota podem proporcionar aos doentes <sup>22, 45</sup>. A manipulação da microbiota pode então permitir a obtenção



de melhores resultados a nível da saúde destes pacientes, pois reforça a comunicação saudável no eixo intestino-cérebro <sup>46</sup>. No geral, este tipo de terapêuticas são mais vantajosas nos indivíduos que têm maior predisposição para sintomas GI, de uma forma direta porque ao aliviarem os sintomas GI vão contribuir para melhorar também a parte comportamental que é agravada por estes sintomas, e de uma forma indireta porque ao promoverem uma modulação da terapêutica vão contribuir para a normalização das vias bioquímicas envolvidas nos processos fisiopatológicos de PEA.

### **7.1. Probióticos**

Os probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, têm a capacidade de modular a microbiota, contribuindo para melhorar a condição neurofisiológica e, conseqüentemente, o comportamento <sup>22</sup>. Os mais usados são *Lactobacillus* spp e *Bifidobacterium* spp, produtores de ácido láctico <sup>10, 45</sup>. É expectável que a administração destes vá contribuir para equilibrar a composição da microbiota, diminuindo a abundância das espécies com efeitos negativos, como é o caso de *C. difficile*, e assim prevenir danos no neurodesenvolvimento que estão relacionados com estas espécies <sup>33</sup>. De um modo geral, os probióticos vão: Influenciar a produção de metabolitos pela microbiota, por exemplo, normalizar a quantidade de AGCC <sup>26</sup> e aumentar a produção de antioxidantes e enzimas digestivas <sup>13</sup>; diminuir a permeabilidade intestinal pelo aumento de expressão de proteínas das junções de oclusão, secreção de mucina, defensinas e IgA; diminuir o pH do lúmen intestinal <sup>18</sup>; promover a regularização da neurotransmissão <sup>26</sup>; melhorar a consistência das fezes, reduzindo os episódios de diarreia/obstipação e outros sintomas GI; modular o sistema imunitário do hospedeiro <sup>33</sup>. Todos estes efeitos vão contribuir para reduzir a desregulação imune e a situação inflamatória e, assim, melhorar os comportamentos anormais associados a esta doença.

Diversas espécies são usadas como probióticos, como é o caso de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium infantis* e *Bacteroides fragilis*. O efeito que mais sobressai, é o aumento de Bacteroidetes e *Lactobacillus*, e a diminuição de Firmicutes e *Desulfovibrio* <sup>10</sup>.

No caso da administração de *Lactobacillus plantarum* em crianças com PEA verificou-se que há diminuição de bactérias patogénicas, como *Clostridium*, e aumento das benéficas, como *Lactobacillus* <sup>46</sup>. Verificou-se ainda que há uma alteração da consistência das fezes, o que diminui os episódios de obstipação <sup>38, 46</sup>. Já no que toca ao comportamento social, não houve alterações significativas.

A espécie *Lactobacillus reuteri*, tem a capacidade de modular a atividade da glândula pituitária para que esta liberte oxitocina, que por sua vez, vai ter influência no comportamento social, bem como, reduzir a inflamação causada por LPS<sup>10</sup>. Está descrito ainda, que tem eficácia a reduzir os sintomas de doenças diarreicas em crianças<sup>22</sup>.

*Lactobacillus rhamnosus* tem impacto direto no sistema GABAérgico, via nervo vago, e por isso pode ser responsável pela modulação de certos comportamentos associados à ansiedade e stress<sup>10, 46</sup>. Esta espécie pode ainda reduzir os corticoides no sangue, o que leva à redução de ansiedade e outros sintomas depressivos<sup>10</sup>.

A nível da administração de *Bifidobacterium infantis*, em conjunto com colostro bovino (prebiótico), houve diminuição dos comportamentos aberrantes típicos de PEA e diminuição de, pelo menos, um sintoma GI<sup>46</sup>.

Os efeitos da administração de *Bacteroides fragilis* foram avaliados num estudo realizado por Hsiao *et al.*<sup>47</sup> em murganhos com ativação imune materna, que apresentavam comportamentos e sintomas GI análogos aos observados em PEA. A administração precoce revelou ter um efeito benéfico a nível da permeabilidade intestinal, comprovado através do aumento da expressão de algumas proteínas das junções de oclusão (CLDN8 e CLDN15), o que pode permitir a extrapolação de conclusões que levam a crer que o mesmo também pode ocorrer na BHE, impedindo a entrada de toxinas que possam afetar os genes com maior suscetibilidade ao desenvolvimento de PEA<sup>33, 47</sup>. Neste mesmo estudo, foi descoberto que após a toma de probióticos, os níveis de algumas citocinas inflamatórias foram normalizados, como é o caso de IL-6, revelando melhoria da função barreira, uma vez que esta citocina também está relacionada diretamente com a regulação das junções de oclusão<sup>47</sup>. As alterações proporcionadas por *B. fragilis*, resultam em melhorias do comportamento estereotipado e repetitivos e comunicação dos murganhos, apoiando, uma vez mais, a conexão entre o intestino e o cérebro, e a ideia de que a modulação da microbiota vai ser benéfica para controlar os sintomas desta patologia<sup>47</sup>.

Os mecanismos de atuação dos probióticos, têm como objetivo colmatar as principais questões fisiopatológicas de PEA, que tanto contribuem para provocar os sintomas GI, como os comportamentais. Esta suplementação numa fase precoce da vida reduz o risco de distúrbios neuropsiquiátricos durante o desenvolvimento, uma vez que ao corrigir a inflamação sistémica, e bloquear a ação das citocinas inflamatórias, vai prevenir os sintomas típicos de PEA, comprovado por estudos em modelos animais com ativação imune maternal<sup>33</sup>. Estas

evidências tornam os probióticos uma boa aposta como terapêutica complementar para a melhoria dos sintomas de PEA.

## 7.2. Prebióticos

Prebióticos são definidos como os hidratos de carbono não digeríveis pelo humano, que vão ser fermentados pelas bactérias intestinais, servindo como alimento para estas, e assim, promover o seu crescimento e atividade <sup>48</sup>. O efeito mais notório dos prebióticos vai ser a modulação das bactérias da microbiota, pois promove o desenvolvimento das espécies mais vantajosas para o organismo, sendo comum observar uma diminuição de marcadores inflamatórios <sup>38</sup>, o que melhora os sintomas GI e comportamentais dos doentes.

Existem vários tipos de prebióticos, galactooligosacarídeos (GOS), frutooligosacarídeos (FOS), lactulose <sup>18</sup>, inulina, entre outros <sup>22</sup>. Estes vão favorecer o crescimento de bactérias como *Bifidobacterium* <sup>23, 46</sup>, *A. muciniphila*, *Bacteroides* <sup>19</sup> e *Lactobacillus* <sup>22</sup>. De um modo geral, revelaram ter efeitos positivos a nível da ansiedade e depressão, em toma prolongada, uma vez que promovem a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), evitam a libertação de cortisol <sup>19</sup>, promovem a formação de metabolitos benéficos através da sua fermentação pelas bactérias <sup>18</sup> e têm um efeito neurotrófico <sup>22</sup>. Adicionalmente, verificou-se uma diminuição da proteína zonulina, indicativa da permeabilidade intestinal e da BHE, após a toma de probióticos juntamente com FOS <sup>26</sup> e regularização da metabolização do triptofano, através de diminuição da hiperserotoninémia, com aumento simultâneo de quinurenina <sup>26</sup>. Grimaldi *et al.* <sup>49</sup> verificou um crescimento diferencial da espécie *Bifidobacterium longum*, num estudo que analisou a administração de B-GOS juntamente com uma dieta de exclusão, o que pode ter benefícios a nível da memória e redução do stress <sup>49</sup>.

A junção de prebióticos com probióticos revela ser também uma boa alternativa pois potenciam os efeitos benéficos mutuamente. A toma conjunta contribui para reduzir os níveis de citocinas inflamatórias, tanto a nível circulante, como a nível fecal, e contribui para levar os valores de AGCC para níveis saudáveis <sup>30</sup>. Podemos concluir que esta terapêutica promove um melhor estado de saúde, tanto localmente no intestino, como a nível cerebral.

## 7.3. Transplante da Microbiota Fecal

Esta abordagem terapêutica é usada atualmente para tratamento de infeção provocada por *Clostridium difficile* e, por se verificaram alterações significativas na composição da microbiota nos indivíduos com PEA, o seu uso também foi sugerido para esta patologia <sup>22</sup>. Esta

consiste em selecionar um indivíduo, saudável, que vai ser dador de microrganismos fecais cujo destino é a inoculação no intestino do recetor, havendo transplante de centenas de bactérias<sup>50</sup>, metabolitos e outros elementos<sup>38</sup>.

Relativamente ao seu uso em PEA, há estudos que demonstram que após a implementação deste tratamento em crianças com PEA e sintomas GI, associado à administração prévia de vancomicina, seguida de limpeza do intestino, sintomas como diarreia, obstipação e dor abdominal reduzem em cerca de 80% e, inclusive, verificam-se melhorias dos sintomas típicos de PEA, ainda que de uma forma mais lenta<sup>5, 10</sup>. Após o follow-up de 2 anos, a maioria destes pacientes continuaram a sentir uma melhoria significativa dos sintomas GI, bem como uma diminuição da severidade de PEA, sendo que tudo aponta para que estas melhorias estejam intimamente ligadas ao tratamento. Associado a estas, também se verificou uma manutenção da diversidade da composição da microbiota o que, por sua vez, impulsiona as melhorias comportamentais e dos sintomas GI<sup>5</sup>. Bactérias como *Bifidobacterium*, *Prevotella* e *Desulfovibrio*, estão entre as que apresentam maior aumento após a realização deste procedimento<sup>30</sup>. Também há relatos relativamente à alteração das características metabólicas em que, após transplante da microbiota fecal (TMF), aproximou-se à encontrada nos indivíduos normais<sup>30</sup>.

No entanto, esta terapêutica pode não ser totalmente eficaz, havendo relatos de outros efeitos adversos, como é o caso do aumento de peso<sup>28</sup>, febre, vômitos, diarreia, fezes com sangue, dor abdominal<sup>50</sup>, ou ainda, o retorno da microbiota ao estado original, algum tempo após o tratamento. Apesar destes efeitos, considera-se, no geral, bem tolerada pelos pacientes<sup>50</sup>. Além disto, se o dador também possuir estirpes patogénicas, existe a possibilidade de infectar o recetor e, por isso, é crucial um *screening* exaustivo dos dadores. É essencial haver ainda um critério estabelecido relativamente às espécies transplantadas, uma vez que o objetivo terapêutico são as vias patológicas desta doença, e não apenas uma administração indiscriminada de bactérias.

#### **7.4. Antibióticos**

A modulação da microbiota também pode ser atingida através do uso de antibióticos específicos que eliminam seletivamente microbiota residual, fortalecem a microbiota resistente a antibióticos e influenciam tecidos vizinhos relacionados com a microbiota intestinal<sup>30</sup>.

A vancomicina, é um dos antibióticos muito estudados para melhorar os sintomas de PEA. Este antibiótico é específico para o género *Clostridium*, um dos responsáveis pelos comportamentos típicos de PEA. A toma de vancomicina oral, associada a probióticos,

demonstrou melhorar os sintomas comportamentais dos doentes. No entanto, este resultado não permanece após a suspensão do tratamento <sup>1, 22</sup>. Isto pode ser devido a este tipo de bactérias serem formadoras de esporos, e por isso podem permanecer numa forma inativa, não afetada pelo antibiótico, e mais tarde tornarem-se infecciosos <sup>22</sup>.

Os antibióticos podem, ainda, exercer um efeito antidepressivo ao privilegiarmos a existência de uma microbiota equilibrada, com recurso a estes fármacos para eliminação de espécies nefastas e crescimento das benéficas, como é o caso de *Lactobacillus*, que está associado a melhoria dos sintomas depressivos <sup>19</sup>. Contudo, não devem ser alvo de um uso desmesurado, pois há a preocupação de desenvolvimento de resistências, e de outras alterações adaptativas, nefastas para o hospedeiro <sup>19</sup>.

## **7.5. Dieta**

O padrão alimentar de crianças com PEA compreende menor ingestão de frutas, vegetais e proteínas. Ao ser favorecida uma dieta mais diversificada nestes indivíduos, vai ser possível regular a própria microbiota e os metabolitos produzidos <sup>2</sup>.

A toma de alimentos funcionais, definidos como alimentos que apresentam efeito benéfico numa, ou mais, funções específicas do organismo <sup>51</sup>, também está a ser estudada como uma abordagem para melhorar a saúde intestinal. Por exemplo, a N-acetilcisteína, presente naturalmente em certos alimentos do quotidiano, possui ação anti-inflamatória importante, moduladora da via do glutamato e neurotrófica, apresentando resultados positivos a nível do domínio cognitivo <sup>38</sup>.

Dietas com exclusão de caseína e glúten também estão a ser consideradas como adjuvantes pois apresentam efeitos benéficos a nível cognitivo e social <sup>10</sup>. A explicação que pode justificar estes resultados está relacionada com o metabolismo destas moléculas, que leva a uma produção excessiva de moléculas que se ligam aos recetores opioides, que por sua vez, vão ter efeitos secundários comportamentais e intestinais, como obstipação <sup>49</sup>.

## **8. Limitações**

### **8.1. Estudos em Humanos**

Os estudos realizados em humanos apresentam diversos inconvenientes: Obtenção de amostras com métodos invasivos; hospitalização e monitorização constante; elevada diversidade interindividual devido a fatores não controláveis <sup>28</sup> (alimentação, medicamentos, stress, etc.). Para além disto, estes estudos incluem, por norma, amostras populacionais muito

reduzidas, heterogéneas <sup>26</sup> e um tempo de seguimento reduzido, o que condiciona a interpretação e possíveis conclusões que venham a ser retiradas dos mesmos <sup>45</sup>.

As amostras fecais, podem ser úteis para revelarem algumas informações acerca do intestino, mais concretamente do cólon, no entanto é errado pensar que estas podem dar uma amostra representativa de todo o intestino <sup>2</sup>. A técnica de obtenção e manipulação das amostras também pode ser diferente entre os estudos. Este fenómeno pode explicar os resultados contraditórios obtidos relativamente à abundância de determinadas bactérias em estudos distintos. Muitas vezes os dados são obtidos de forma mais subjetiva, através da observação pelos clínicos e preenchimento de questionários pelos responsáveis dos doentes, e não com recurso a indicadores bioquímicos fiáveis e objetivos, o que pode originar resultados discordantes entre diferentes estudos, ou até dentro do mesmo estudo <sup>26</sup>.

## **8.2. Estudos em Animais**

Os animais utilizados são variados, salientando-se os roedores, que não conseguem mimetizar as condições intestinais humanas na totalidade, uma vez que possuem uma dieta e fisiologia do trato intestinal distintos <sup>28</sup> e não exibem a totalidade dos sintomas comportamentais derivados das alterações do neurodesenvolvimento <sup>2</sup>.

Ainda que sejam um bom modelo de estudo, os resultados deste tipo de estudo não podem ser completamente transponíveis para o homem. Apesar disto, estes têm algumas vantagens, são menos dispendiosos e permitem maior facilidade em obter uma grande quantidade de amostras.

Os roedores, em concreto, são animais muito utilizados, e por isso as características comportamentais já são bem conhecidas, bem como as técnicas de manipulação já estão bem estabelecidas <sup>2</sup>.

## **9. Considerações Finais**

Com o passar dos anos, as PEA passaram a ser vistas como um conjunto de situações clínicas heterogéneas e complexas e, apesar de existirem muitos estudos que esclarecem quais são as causas genéticas e quais os fatores ambientais que contribuem para aumentar o risco de PEA, ainda permanecem por clarificar os mecanismos exatos de interação entre estas duas variáveis e o seu impacto na etiologia de PEA <sup>9</sup>.

Relativamente à microbiota, não é possível atribuir um padrão definido de microrganismos nos indivíduos com PEA, apenas é possível concluir que existe diminuição da diversidade e que o maior número de alterações se verificam em determinadas espécies já

identificadas. Esta deve ser vista como um alvo, tanto a nível de diagnóstico, como a nível de terapêutica, pois proporciona um conjunto de moléculas que podem ser usadas como biomarcadores, úteis no diagnóstico, evolução e eficácia dos tratamentos, mas também se posiciona como um bom alvo terapêutico, através da sua modulação com recurso a probióticos, prebióticos, TMF, antibióticos e dieta, com um bom contributo a nível do alívio da sintomatologia sentida por estes doentes. No entanto, nem todos os estudos realizados até ao momento são concordantes, e por isso, deve promover-se a realização futura de ensaios clínicos com indivíduos o mais homogêneos possível, quer em idade, severidade e tipo de sintomatologia, bem como, em condições idênticas em todos os grupos <sup>52</sup>.

Por fim, e tendo em conta todos os fatores ambientais que podem influenciar o aparecimento desta patologia, o farmacêutico, como profissional de saúde, deve alertar, sempre que possível, para os riscos de certas práticas, por exemplo, a dieta e a toma de medicamentos durante a gravidez, que contribuem para aumentar a probabilidade de desenvolvimento da doença, e assim, colaborar para a diminuição da incidência de PEA.

## 10. Bibliografia

1. HUGHES, H. K., ROSE, D. & ASHWOOD, P. - **The Gut Microbiota and Dysbiosis in Autism Spectrum Disorders.** *Current Neurology and Neuroscience Reports.* 18 (2018).
2. GARCIA-GUTIERREZ, E., NARBAD, A. & RODRÍGUEZ, J. M. - **Autism Spectrum Disorder Associated with Gut Microbiota at Immune, Metabolomic, and Neuroactive Level.** *Frontiers in Neuroscience.* 14 (2020).
3. ERNESTO MARTÍNEZ-GONZÁLEZ, A. & ANDREO-MARTÍNEZ, P. - **Prebiotics, probiotics and fecal microbiota transplantation in autism: A systematic review.** *Revista de psiquiatria y salud mental.* 13 (2020) 150–164.
4. RODRÍGUEZ, J. M., MURPHY, K., STANTON, C., ROSS, R. P., KOBER, O. I., JUGE, N., AVERSHINA, E., RUDI, K., NARBAD, A., JENMALM, M. C., MARCHESI, J. R., & COLLADO, M. C. - **The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life.** *Microbial Ecology in Health & Disease.* 26 (2015).
5. KANG D.W., ADAMS J.B., COLEMAN D.M., POLLARD E.L., MALDONADO J., MCDONOUGH-MEANS S., CAPORASO J.G., KRAJMALNIK-BROWN R. - **Long-term benefit of Microbiota Transfer Therapy on autism symptoms and gut microbiota.** *Scientific Reports.* 9 (2019).
6. MEEKING, M. M., MACFABE, D. F., MEPHAM, J. R., FOLEY, K. A., TICHENOFF, L. J., BOON, F. H., KAVALIERS, M., & OSSENKOPP, K. P. - **Propionic acid induced behavioural effects of relevance to autism spectrum disorder evaluated in the hole board test with rats.** *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* 97 (2020).
7. NATIONAL INSTITUTE ON DEAFNESS, & OTHER COMMUNICATION DISORDERS - **Autism Spectrum Disorder: Communication Problems in Children.** [Consultado em 10-07-2021]. Disponível na Internet: <https://www.nidcd.nih.gov/health/autism-spectrum-disorder-communication-problems-children>
8. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Autism spectrum disorders.** [Consultado em 07-07-2021]. Disponível na Internet: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/autism-spectrum-disorders>
9. RYLAARSDAM, L. & GUEMEZ-GAMBOA, A. - **Genetic Causes and Modifiers of Autism Spectrum Disorder.** *Frontiers in Cellular Neuroscience.* 13 (2019).



10. SRIKANTHA, P. & HASAN MOHAJERI, M. - **The possible role of the microbiota-gut-brain-axis in autism spectrum disorder.** *International Journal of Molecular Sciences.* 20 (2019).
11. GABRIELE, S., SACCO, R. & PERSICO, A. M. - **Blood serotonin levels in autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis.** *European Neuropsychopharmacology.* 24 (2014) 919–929.
12. HSIAO, E. Y. - **Gastrointestinal issues in autism spectrum disorder.** *Harvard Review of Psychiatry.* 22 (2014) 104–111.
13. FATTORUSSO, A., DI GENOVA, L., DELL'ISOLA, G. B., MENCARONI, E. & ESPOSITO, S. - **Autism spectrum disorders and the gut microbiota.** *Nutrients.* 11 (2019).
14. VUONG, H. E. & HSIAO, E. Y. - **Emerging Roles for the Gut Microbiome in Autism Spectrum Disorder.** *Biological Psychiatry.* 81 (2017) 411–423.
15. SINGULARITY HUB - **New Research Sheds Light on Autism's Genetic Causes** [Consultado em 14-06-2021]. Disponível na Internet: <https://web.archive.org/web/20100618140759/http://singularityhub.com/2010/06/15/new-research-sheds-light-on-autism%E2%80%99s-genetic-causes/>.
16. SPANOGIANNOPOULOS, P., BESS, E. N., CARMODY, R. N. & TURNBAUGH, P. J. - **The microbial pharmacists within us: A metagenomic view of xenobiotic metabolism.** *Nature Reviews Microbiology.* 14 (2016) 273–287.
17. IEBBA, V., TOTINO, V., GAGLIARDI, A., SANTANGELO, F., CACCIOTTI, F., TRANCASSINI, M., MANCINI, C., CICERONE, C., CORAZZIARI, E., PANTANELLA, F., & SCHIPPA, S. - **Eubiosis and dysbiosis: the two sides of the microbiota.** *New Microbiologica.* 39 (2016).
18. BARKO, P. C., MCMICHAEL, M. A., SWANSON, K. S. & WILLIAMS, D. A. - **The Gastrointestinal Microbiome: A Review.** *Journal of Veterinary Internal Medicine.* 32 (2018) 9–25.
19. PASCALE, A., MARCHESI, N., GOVONI, S. & BARBIERI, A. - **Targeting the microbiota in pharmacology of psychiatric disorders.** *Pharmacological Research.* 157 (2020).
20. FUNG, T. C., OLSON, C. A. & HSIAO, E. Y. - **Interactions between the microbiota, immune and nervous systems in health and disease.** *Nature Neuroscience.* 20 (2017) 145–155.

21. THURSBY, E. & JUGE, N. - **Introduction to the human gut microbiota.** *Biochemical Journal.* 474 (2017) 1823–1836.
22. YANG, Y., TIAN, J. & YANG, B. - **Targeting gut microbiome: A novel and potential therapy for autism.** *Life Sciences.* 194 (2018) 111–119.
23. LI, Q., HAN, Y., DY, A. B. C. & HAGERMAN, R. J. - **The gut microbiota and autism spectrum disorders.** *Frontiers in Cellular Neuroscience.* 11 (2017).
24. LERNER, A., NEIDHÖFER, S. & MATTHIAS, T. - **The Gut Microbiome Feelings of the Brain: A Perspective for Non-Microbiologists.** *Microorganisms.* 5:66 (2017).
25. LASHERAS, I., SERAL, P., LATORRE, E., BARROSO, E., GRACIA-GARCÍA, P., & SANTABÁRBARA, J. - **Microbiota and gut-brain axis dysfunction in autism spectrum disorder: Evidence for functional gastrointestinal disorders.** *Asian Journal of Psychiatry.* 47 (2020).
26. WANG, Y., LI, N., YANG, J. J., ZHAO, D. M., CHEN, B., ZHANG, G. Q., CHEN, S., CAO, R. F., YU, H., ZHAO, C. Y., ZHAO, L., GE, Y. S., LIU, Y., ZHANG, L. H., HU, W., ZHANG, L., & GAI, Z. T. - **Probiotics and fructo-oligosaccharide intervention modulate the microbiota-gut brain axis to improve autism spectrum reducing also the hyper-serotonergic state and the dopamine metabolism disorder.** *Pharmacological Research.* 157 (2020).
27. DING, H. T., TAUR, Y. & WALKUP, J. T. - **Gut Microbiota and Autism: Key Concepts and Findings.** *Journal of Autism and Developmental Disorders.* 47 (2017) 480–489.
28. VÁZQUEZ-BAEZA, Y., CALLEWAERT, C., DEBELIUS, J., HYDE, E., MAROTZ, C., MORTON, J. T., SWAFFORD, A., VRBANAC, A., DORRESTEIN, P. C., & KNIGHT, R. - **Impacts of the Human Gut Microbiome on Therapeutics.** *Annual Review of Pharmacology and Toxicology.* 58 (2018) 253–270.
29. NITHIANANTHARAJAH, J., BALASURIYA, G. K., FRANKS, A. E. & HILL-YARDIN, E. L. - **Using Animal Models to Study the Role of the Gut–Brain Axis in Autism.** *Current Developmental Disorders Reports.* 4 (2017) 28–36.
30. YANG, J., FU, X., LIAO, X. & LI, Y. - **Effects of gut microbial-based treatments on gut microbiota, behavioral symptoms, and gastrointestinal symptoms in**

- children with autism spectrum disorder: A systematic review.** *Psychiatry Research.* 293 (2020).
31. FIORENTINO, M., SAPONE, A., SENGER, S., CAMHI, S. S., KADZIELSKI, S. M., BUIE, T. M., KELLY, D. L., CASCELLA, N., & FASANO, A. - **Blood-brain barrier and intestinal epithelial barrier alterations in autism spectrum disorders.** *Molecular Autism.* 7 (2016).
32. CORETTI, L., PAPARO, L., RICCIO, M. P., AMATO, F., CUOMO, M., NATALE, A., BORRELLI, L., CORRADO, G., COMEGNA, M., BUOMMINO, E., CASTALDO, G., BRAVACCIO, C., CHIARIOTTI, L., BERNI CANANI, R., & LEMBO, F. - **Gut microbiota features in young children with autism spectrum disorders.** *Frontiers in Microbiology.* 9 (2018).
33. DOENYAS, C. - **Gut Microbiota, Inflammation, and Probiotics on Neural Development in Autism Spectrum Disorder.** *Neuroscience.* 374 (2018) 271–286.
34. KRANEVELD, A. D., SZKLANY, K., DE THEIJE, C. G. M. & GARSSSEN, J. - **Gut-to-Brain Axis in Autism Spectrum Disorders: Central Role for the Microbiome.** in *International Review of Neurobiology.* 131 (2016) 263–287.
35. VAN SADELHOFF, J., PEREZ PARDO, P., WU, J., GARSSSEN, J., VAN BERGENHENEGOUWEN, J., HOGENKAMP, A., HARTOG, A., & KRANEVELD, A. D. - **The gut-immune-brain axis in autism spectrum disorders; a focus on amino acids.** *Frontiers in Endocrinology.* 10 (2019).
36. MADORE, C., LEYROLLE, Q., LACABANNE, C., BENMAMAR-BADEL, A., JOFFRE, C., NADJAR, A., & LAYÉ, S. - **Neuroinflammation in Autism: Plausible Role of Maternal Inflammation, Dietary Omega 3, and Microbiota.** *Neural Plasticity.* 2016 (2016).
37. LI, K., HU, Z., OU, J. & XIA, K. - **Altered Gut Microbiome in Autism Spectrum Disorder: Potential Mechanism and Implications for Clinical Intervention.** *Global Clinical and Translational Research.* 1 (2019).
38. SEEMAN, M. V. - **The gut microbiome and antipsychotic treatment response.** *Behavioural Brain Research.* 396 (2021).
39. KLAASSEN, C. D. & CUI, J. Y. **Special section on drug metabolism in the microbiome - Minireview review: Mechanisms of how the intestinal microbiota**

- alters the effects of drugs and bile acids.** *Drug Metabolism and Disposition.* 43 (2015) 1505–1521.
40. TURNER, M. - **The role of drugs in the treatment of autism.** *Australian Prescriber.* 43 (2020) 185–190.
41. GUTHRIE, L. & KELLY, L. - **Bringing microbiome-drug interaction research into the clinic.** *EBioMedicine.* 44 (2019) 708–715.
42. SOUSA, T., PATERSON, R., MOORE, V., CARLSSON, A., ABRAHAMSSON, B., & BASIT, A. W. - **The gastrointestinal microbiota as a site for the biotransformation of drugs.** *International Journal of Pharmaceutics.* 363 (2008) 1–25.
43. ZIMMERMANN, M., ZIMMERMANN-KOGADEEVA, M., WEGMANN, R. & GOODMAN, A. L. - **Mapping human microbiome drug metabolism by gut bacteria and their genes.** *Nature.* 570 (2019) 462–467.
44. SELWYN, F. P., CUI, J. Y. & KLAASSEN, C. D. - **RNA-Seq Quantification of Hepatic Drug Processing Genes in Germ-Free Mice.** *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals.* 43 (2015) 1572–1580.
45. BARBOSA, R. S. D. & VIEIRA-COELHO, M. A. **Probiotics and prebiotics: Focus on psychiatric disorders- A systematic review.** *Nutrition Reviews.* 78 (2020) 437–450.
46. LIGEZKA, A. N., SONMEZ, A. I., CORRAL-FRIAS, M. P., GOLEBIEWSKI, R., LYNCH, B., CROARKIN, P. E., & ROMANOWICZ, M. - **A systematic review of microbiome changes and impact of probiotic supplementation in children and adolescents with neuropsychiatric disorders.** *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.* 108 (2020).
47. HSIAO, E. Y., MCBRIDE, S. W., HSIEN, S., SHARON, G., HYDE, E. R., MCCUE, T., CODELLI, J. A., CHOW, J., REISMAN, S. E., PETROSINO, J. F., PATTERSON, P. H., & MAZMANIAN, S. K. - **Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders.** *Cell.* 155 (2013) 1451–1463.
48. FARMÁCIAS PORTUGUESAS - **Prébióticos e probióticos – conhece as diferenças?** [Consultado em 20-05-2021]. Disponível na Internet: <https://www.farmaciasportuguesas.pt/menu-principal/bem-estar/prebioticos-e-probioticos-conhece-as-diferencas.html>.

49. GRIMALDI, R., GIBSON, G. R., VULEVIC, J., GIALLOUROU, N., CASTRO-MEJÍA, J. L., HANSEN, L. H., LEIGH GIBSON, E., NIELSEN, D. S., & COSTABILE, A. - **A prebiotic intervention study in children with autism spectrum disorders (ASDs).** *Microbiome*. 6 (2018).
50. ŻEBROWSKA, P., ŁACZMAŃSKA, I. & ŁACZMAŃSKI, Ł. - **Future Directions in Reducing Gastrointestinal Disorders in Children With ASD Using Fecal Microbiota Transplantation.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 11 (2021).
51. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Ficha técnica do CIM: Alimentos Funcionais.** [Consultado em 07-07-2021]. Disponível na Internet: [https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/ft113\\_alimentos\\_funcionais\\_3247581835b042c730da3f.pdf](https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/ft113_alimentos_funcionais_3247581835b042c730da3f.pdf)