



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Sara Isabel Pereira Peres

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Influência da Microbiota Intestinal no Envelhecimento” referentes à Unidade de “Estágio Curricular”, sob orientação da Dra. Ana Paula Aires, da Dra. Sónia Garrido Santos e da Professora Doutora Teresa do Carmo Pimenta Dinis Silva, 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

Sara Isabel Pereira Peres

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Influência da Microbiota Intestinal no Envelhecimento” referentes à Unidade de “Estágio Curricular”, sob orientação da Dra. Ana Paula Aires, da Dra. Sónia Garrido Santos e da Professora Doutora Teresa do Carmo Pimenta Dinis Silva, 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, Sara Isabel Pereira Peres, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2016240910, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Influência da Microbiota Intestinal no Envelhecimento” 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, 14 de setembro de 2021.

Sara Isabel Pereira Peres

(Sara Isabel Pereira Peres)

AGRADECIMENTOS

A presente monografia e relatórios de estágio representam o culminar de cinco anos de um percurso académico incrível, pelo que não poderia deixar de agradecer a todos os que me apoiaram:

Aos meus pais, por tudo aquilo que fizeram por mim e por nunca terem deixado que me faltasse algo. Obrigada pelo apoio incondicional, pela educação e valores inculcados e por terem tornado tudo isto possível.

À minha irmã que está sempre lá em todos os momentos e com quem posso sempre contar, o teu orgulho e amizade significam o mundo para mim.

A todos os meus amigos que me acompanharam neste percurso e com os quais guardo grandes momentos nesta também nossa Coimbra, estão todos no meu coração.

A título especial, à minha primeira amiga e colega de casa Bárbara, por ter estado presente em todos os momentos.

À minha mãe de Coimbra, Ana Margarida, pelo exemplo que se tornou e pelo apoio e amizade. Ao Rafa, à Cristiana e à Moutinho. À Laura, à Xana e à Diana.

Um obrigada é pouco!

À minha restante família, amigos e colegas que me acompanharam neste percurso, o meu mais sincero obrigada!

À Professora Doutora Teresa Dinis, por todo o tempo e apoio disponibilizados durante a elaboração deste trabalho.

A toda a equipa da Farmácia do Bairro pela simpatia com que me receberam, pelos conhecimentos transmitidos e por toda a ajuda e disponibilidade.

A todos os colaboradores dos Laboratórios Basi, em especial à Dra. Sónia Garrido Santos, por todo o apoio prestado ao longo dos três meses de estágio. Foi sem dúvida uma inspiração!

A ti Coimbra, obrigada por estes anos incríveis.

Não te trocava por nada!

ÍNDICE

Parte I. Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

LISTA DE ABREVIATURAS.....	7
INTRODUÇÃO	9
Farmácia do Bairro.....	10
Análise SWOT	11
Pontos Fortes.....	11
Localização.....	11
Equipa da Farmácia do Bairro.....	12
Fidelização dos utentes.....	12
Organização do espaço.....	13
Serviços Farmacêuticos	13
Protocolos Valormed / Cartão Saúde	14
Horário de Funcionamento	15
Formação Contínua.....	15
Pontos Fracos	15
Inexperiência e Insegurança iniciais no atendimento	15
Lacunas de conhecimento.....	16
Preparações de Uso Veterinário	16
Oportunidades.....	17
Aplicação dos conhecimentos adquiridos	17
Valorização do papel do farmacêutico	17
Cross-Selling.....	17
Número de estagiários	17
Ameaças	18
Medicamentos Genéricos e Marcas	18
Locais de Venda de MNSRM	18
Ruturas de stock / Medicamentos esgotados	19
Oscilação constante do preço dos medicamentos.....	19
COVID-19	19
Casos Práticos.....	20
Caso Prático 1	20
Caso Prático 2	21
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	22
BIBLIOGRAFIA.....	23

Parte II. Relatório de Estágio de Indústria Farmacêutica

LISTA DE ABREVIATURAS.....	24
INTRODUÇÃO	26
Laboratórios BASI.....	27
Departamento de Produção	28
Análise SWOT	31
Pontos Fortes.....	31

Formação Acadêmica.....	31
Instalações.....	32
Entidade Acolhedora.....	32
Consciencialização ambiental e gestão de resíduos	33
Pontos Fracos	33
Insegurança inicial.....	33
Ausência de um plano de estágio	33
Oportunidades.....	34
Estágio diferenciador	34
Enriquecimento pessoal e profissional	34
Polivalência das tarefas realizadas.....	34
Empresa em crescimento	35
Ameaças	35
Peso do farmacêutico na Produção	35
Inexistência de uma linha de produção de formas farmacêuticas sólidas.....	36
COVID-19	36
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
BIBLIOGRAFIA.....	38

Parte III. Monografia: Influência da Microbiota Intestinal no Envelhecimento

LISTA DE ABREVIATURAS.....	40
RESUMO	41
ABSTRACT.....	42
INTRODUÇÃO	43
A Microbiota Humana.....	45
O Microbioma Intestinal Humano.....	45
Colonização.....	47
Fatores Condicionantes da Composição do Microbioma	48
Importância e Funções da Microbiota Intestinal Humana.....	49
Metabolismo e digestão de nutrientes	49
Proteção do hospedeiro e desenvolvimento do sistema imunológico	50
Função estrutural	50
Função neurológica.....	51
Papel da Microbiota Intestinal e dos seus Metabolitos na Saúde do Hospedeiro	51
Envelhecimento.....	54
Inflamação, Imunosenescência e Síndrome de Fragilidade.....	54
Causas do <i>Inflammaging</i>	55
Tecido Adiposo	55
Senescência.....	55
Espécies reativas de oxigênio	56
Encurtamento dos telômeros	56
Microbiota Intestinal.....	57
Envelhecimento e Alterações da Microbiota: Causa ou Consequência?	58
Doenças Geriátricas Relacionadas com a Microbiota Intestinal.....	61

Manipulação da Microbiota Intestinal como Estratégia para o Controlo de Doenças Geriátricas	62
Intervenções na dieta	62
Probióticos, Prebióticos e Simbióticos.....	63
Transplante da microbiota fecal.....	64
CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS	66
BIBLIOGRAFIA.....	67

PARTE I. RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

FARMÁCIA DO BAIRRO

LISTA DE ABREVIATURAS

FC	Farmácia Comunitária
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
MNSRM	Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica
MSRM	Medicamentos Sujeitos a Receita Médica
PUV	Preparações de Uso Veterinário
PVP	Preço de Venda ao Público
SWOT	Do inglês, <i>Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats</i>

INTRODUÇÃO

De acordo com o Artigo 9º do Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos, o Farmacêutico é um agente de saúde ao qual compete, entre outras valências, a execução de todas as tarefas que concernem ao medicamento. Cabe também ao farmacêutico contribuir para a salvaguarda da saúde pública e educação dirigidas à comunidade no âmbito da promoção da saúde. (1)

O estágio curricular em Farmácia Comunitária (FC) é uma unidade obrigatória do plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), tendo lugar no último semestre do curso, podendo ou não ser acompanhado por um outro estágio numa outra área de atuação farmacêutica. É nesta fase que o estudante aplica e consolida os conhecimentos teóricos obtidos ao longo dos semestres anteriores, através do confronto com o ambiente e as situações inerentes à prática profissional. Este contacto com a realidade profissional reveste-se de uma importância crucial para o estudante que em breve se tornará num farmacêutico na medida em que contribui para a construção de uma base de formação sólida para conseguir exercer de forma autónoma, confiante, responsável e segura o seu papel junto da população.

Assim sendo e tendo como base o plano de estudos do MICF, realizei o meu estágio de FC entre o período de 12 de abril e 30 de julho como parte da equipa da Farmácia do Bairro, em Coimbra, no qual tive a orientação da diretora técnica Dra. Ana Paula Aires, bem como o apoio e acompanhamento da restante equipa técnica. A escolha do local de realização do estágio baseou-se sobretudo na área onde se situa a farmácia, o Bairro Norton de Matos, que lhe confere a possibilidade de ser uma típica farmácia de bairro, e por isso frequentada, acima de tudo, por utentes habituais permitindo-me estabelecer uma maior relação de proximidade com os utentes e facilitando a comunicação com estes através de um acompanhamento mais fácil e adequado dos mesmos.

Assim sendo, serve o presente relatório, elaborado sob a forma de análise SWOT, do inglês (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), como forma de resumir de forma introspetiva e crítica os aspetos mais relevantes que decorreram ao longo do meu estágio na Farmácia do Bairro.

Farmácia do Bairro

A Farmácia do Bairro localiza-se em Coimbra, na Rua Praceta Infante D. Henrique, no Bairro Norton de Matos. Esta farmácia exerce funções há mais de sessenta anos, tendo já alterado de nome e de estabelecimento, no entanto, como se manteve sempre em locais próximos no bairro conseguiu assegurar uma forte e duradoura relação entre os utentes e a equipa. A Farmácia do Bairro possui uma equipa de trabalho bastante competente e profissional, onde se verifica uma grande dinâmica e espírito de entreajuda e sacrifício o que que transparece na qualidade de prestação de serviços para a comunidade.

Tabela I – Enquadramento da Farmácia.

Localização	Bairro Norton de Matos
Horário de Funcionamento	Segunda a Sexta: 8:30h – 20h Sábado: 9h – 19h
Direção Técnica	Dra. Ana Paula Aires
Farmacêutico Substituto	Dra. Catarina Heleno
Farmacêuticos	Dr. João André Gonçalves (proprietário) Dra. Camila Carvalho Dra. Catarina Rodrigues Dra. Joana Matos
Técnicos de Farmácia	Sr. Fernando Gonçalves Adriana Ferreira

Nos dias de serviço permanente, a Farmácia do Bairro pratica o horário de acordo com o Decreto-Lei n.º 172/2012, de 1 de agosto, cumprindo o horário de abertura permanente durante 24 horas, garantindo assim o acesso contínuo ao medicamento. (2)

Análise SWOT

Em conformidade com as normas orientadoras, o presente relatório toma a forma de uma análise SWOT, onde são discutidos, na dimensão interna, os Pontos Fortes e os Pontos Fracos e, na dimensão externa, as Oportunidades e as Ameaças.



Figura I – Representação esquemática da Análise SWOT do Estágio em Farmácia Comunitária.

Pontos Fortes

Localização

A Farmácia do Bairro localiza-se num bairro habitacional, tendo uma localização privilegiada muito próxima de unidades de saúde como o centro de saúde Norton de Matos, laboratórios de análises clínicas, clínicas dentárias e veterinárias. A par disso, nas redondezas situam-se vários cafés e outros comércios que permitem uma grande afluência de utentes oriundos de variados estratos sociais e económicos e com uma grande abrangência etária. A farmácia possui assim um grande número de utentes fidelizados residentes nas redondezas e

outros utentes que se encontram de passagem e acabam por escolher a farmácia devido à comodidade da localização, já que se encontra à frente de uma paragem de autocarros e tem bastantes lugares para os utentes com transporte próprio conseguirem estacionar. Uma grande porção dos utentes que frequentam a farmácia tem poder de compra, não havendo grandes constrangimentos económicos aquando do aconselhamento de produtos, nomeadamente os de venda livre, como é o caso por exemplo dos dermocosméticos.

Tudo isso, possibilitou que eu me deparasse com diversas situações aumentando a variedade de atendimentos e, com isso, estimulando a minha capacidade de adaptação e de resposta a variadas situações e contextos.

Equipa da Farmácia do Bairro

Iniciar um estágio é, por si só, um momento desafiante que nos prepara para a integração no mundo de trabalho e quando o fazemos num ambiente desconhecido pode tornar-se ainda mais complicado. Como tal, a equipa que nos recebe desempenha um papel fundamental para a nossa integração inicial. A equipa da Farmácia do Bairro define-se pelo seu profissionalismo, competência e pela grande vontade de todos os membros de ultrapassar as adversidades e obstáculos.

Este foi um ano atípico para todos devido à COVID-19 e, apesar de todos os constrangimentos sofridos, a equipa manteve-se sempre unida e à custa de alguns sacrifícios pessoais e de um grande espírito de interajuda, conseguiram ser uma presença constante passando sempre um sentimento de confiança, estabilidade e segurança tão fundamentais para todos os utentes. Todas as qualidades referidas anteriormente aliadas à permanente simpatia e disponibilidade da equipa para comigo permitiram a criação de um ótimo ambiente no qual me consegui integrar e evoluir com bastante facilidade.

Fidelização dos utentes

Apesar da localização da farmácia permitir a afluência de utentes de diferentes faixas etárias, a maior fatia é preenchida pela população idosa que habita nas redondezas da farmácia. Esse facto permite que haja um grande número de utentes fidelizados, o que é uma vantagem tanto para a farmácia, e para mim como estagiária, como para os próprios utentes. Sendo utentes da farmácia há já bastantes anos é possível termos acesso à sua ficha no *software* Sifarma®, onde conseguimos consultar a lista de medicação habitual e guardar dados pessoais que facilitam todo o atendimento. Ter acesso ao histórico do utente é, assim, uma mais-valia na medida em que possibilita um conhecimento maior do utente que temos à nossa frente, o

que permite um acompanhamento mais eficiente e adequado e possibilita a venda de Medicamentos Sujeitos a Receita Médica (MSRM) destinados a doenças crónicas através da dispensa a crédito dos medicamentos, regularizada posteriormente, evitando a suspensão da terapêutica por uma falta momentânea de receita.

Organização do espaço

Toda a Farmácia do Bairro dispõe de uma grande organização, começando no *back office* e acabando no *front office*, em parte devido à organização da própria equipa onde cada membro tem tarefas e responsabilidades estabelecidas e em parte devido a uma constante procura de oportunidades de melhoria.

Os MSRM encontram-se todos devidamente arrumados e acondicionados na parte do *back office* da farmácia onde é também realizada a receção de todas as encomendas. Quando iniciei o meu estágio, estes medicamentos encontravam-se separados por forma farmacêutica e por original e genérico, mas, entretanto, a sua organização foi alterada encontrando-se atualmente apenas divididos por forma farmacêutica. Esta mudança surgiu como forma de melhorar os erros de *stock* derivados de uma má arrumação, facilitando a adaptação de novos membros da equipa, estagiários e não estagiários. Os Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM) permanecem inacessíveis aos utentes, embora alguns se encontrem visíveis em prateleiras na parte traseira dos balcões de atendimento. Na área de passagem dos utentes, encontram-se vários produtos de saúde e bem-estar, que se encontram ao alcance dos utentes. No caso da dermocosmética, os produtos estão organizados por marcas que se encontram dispostas por gamas.

Apar disso, há uma grande preocupação com os prazos de validade de todos os produtos que entram na farmácia, sendo que, todos os produtos expostos respeitam a regra do *first expire first out*, assegurando que os que são vendidos primeiro serão sempre os que têm menor prazo de validade. Além disto, a farmácia contém um armazém, onde são organizados todos os excessos, havendo uma clara separação entre os MSRM e os MNSRM e dermocosméticos.

Serviços Farmacêuticos

Tal como descrito em Diário da República as farmácias foram evoluindo e deixaram de ser “meros locais de venda de medicamentos”, passando a ter a possibilidade de prestar “serviços farmacêuticos de promoção da saúde e do bem-estar dos utentes.” (3)

No caso da Farmácia do Bairro encontram-se disponíveis vários desses serviços, nomeadamente:

- Medição de parâmetros bioquímicos e não bioquímicos: como peso, altura, pressão arterial, glicémia e colesterol total. Este tipo de serviço permite um maior acompanhamento do utente, sensibilizando-o para a importância destes parâmetros como forma de controlo e/ou prevenção das patologias crónicas inerentes aos mesmos. Por sua vez, a formação que realizei no ano de 2018 na Fundação Portuguesa de Cardiologia, mostrou-se bastante útil permitindo-me uma maior facilidade e confiança na realização das medições e nos aconselhamentos prestados.

- Administração de medicamentos injetáveis e vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação.

- Serviços simples de enfermagem.

- Serviços de Nutrição e Podologia: através do recurso a um nutricionista e a um podologista especializado na área do pé diabético, a Farmácia do Bairro oferece aos seus utentes a possibilidade de uma vez por mês terem este acompanhamento especializado na sua farmácia.

- Preparação de medicação individualizada: enquanto estagiária tive a oportunidade de preparar a medicação de uma doente polimedicada, facilitando a sua gestão e toma diária de medicamentos e contribuindo para uma toma segura, correta e eficaz dos medicamentos.

- Preparação de medicamentos manipulados e preparações extemporâneas: embora não haja uma grande afluência de prescrições de manipulados por parte dos utentes que chegam à farmácia, tive oportunidade de participar na preparação de um destes medicamentos no laboratório que a farmácia dispõe para esse efeito e posteriormente no cálculo do PVP desse manipulado, tendo como base “o valor dos honorários de preparação, o valor das matérias-primas e o valor dos materiais de embalagem”. É também nesse laboratório que se realiza a reconstituição de preparações extemporâneas imediatamente antes de serem dispensadas ao utente, assegurando, assim, a sua estabilidade. (4)

Protocolos Valormed / Cartão Saúde

A Farmácia do Bairro dispõe de um protocolo com o Valormed, cujo objetivo passa pela recolha de medicamentos fora do prazo e dos resíduos existentes nas embalagens vazias, impedindo que estes fiquem acessíveis ao público e não tratados no meio ambiente. (5) Cabe-nos também a nós enquanto farmacêuticos passar esta informação, sensibilizando a população

para a sua importância. Durante o meu estágio, tive oportunidade de confirmar que a farmácia fazia um bom trabalho de sensibilização da população, uma vez que verifiquei, por diversas vezes, a deslocação de utentes à farmácia exclusivamente para esse fim.

A farmácia pertence também ao programa de Farmácias Portuguesas, encontrando-se associada ao Cartão Saúde que permite aos utentes arrecadar pontos através da compra de produtos de saúde e bem-estar e de medicamentos em qualquer farmácia aderente, trocando-os posteriormente por produtos presentes no catálogo das Farmácias Portuguesas ou descontando monetariamente em futuras compras. Esta é uma iniciativa que para além de representar um incentivo à compra em farmácias, especialmente de produtos de saúde e bem-estar, permite uniformizar esse incentivo a todas as farmácias aderentes.

Horário de Funcionamento

A Farmácia do Bairro pratica um horário entre as 8:30h e as 20h durante os dias úteis e entre as 9h e as 19h aos sábados, estando de acordo com o Decreto-Lei n.º 172/2012, de 1 de agosto, legislação que regula o horário de funcionamento das farmácias comunitárias. (2)

Este tipo de horário consegue, assim, responder às necessidades de toda a comunidade, garantindo o acesso aos medicamentos e a produtos de venda livre. A par disso, tornou-se também uma mais-valia no meu caso já que me permitiu fazer uma melhor gestão do meu horário de estágio conseguindo assim atingir as 810 horas requeridas de uma forma mais célere.

Formação Contínua

Durante o estágio foi-me dada a oportunidade de assistir a todas as formações possíveis, quer presencialmente na farmácia, como *online*, alargando assim os meus conhecimentos nos mais variados domínios. A formação contínua é indispensável na carreira de qualquer profissional, e na área da saúde esta toma uma dimensão ainda mais relevante uma vez que é fundamental para assegurar que os doentes retirem o maior benefício possível com os menores riscos para o seu bem-estar, de toda e qualquer terapêutica.

Pontos Fracos

Inexperiência e Insegurança iniciais no atendimento

Tendo este estágio sido o primeiro contacto com mundo do trabalho em farmácia comunitária é expectável que surjam erros associados a inexperiência e inseguranças.

Inicialmente o receio de falhar é inevitável e, quando isso se pode repercutir na saúde e bem-estar dos utentes, a pressão aumenta. No entanto, mediante o meu esforço e empenho e a disponibilidade de toda a equipa da farmácia tornou-se possível ultrapassar esses receios e aumentar a minha confiança no atendimento.

Lacunas de conhecimento

Apesar da aprendizagem adquirida ao longo do curso conferir uma base sólida a nível técnico-científico para a realização do estágio, senti que, em algumas situações mais práticas, existiam algumas lacunas de conhecimento. Tal verificou-se principalmente aquando do atendimento, no que dizia respeito aos regimes especiais de comparticipação, despachos e portarias, cedência de MSRM com receitas manuais e o próprio funcionamento do *software* Sifarma[®], principalmente tendo em conta que o contacto proporcionado pela faculdade foi com o Sifarma2000[®] e que atualmente a Farmácia do Bairro utiliza o módulo de atendimento do novo Sifarma[®]. A utilização tanto do programa antigo como do novo mediante as diferentes situações e tarefas gerou também alguma confusão inicial. No caso dos organismos de comparticipação essa lacuna torna-se ainda mais evidente uma vez que em momento algum do MICF se faz referência aos mesmos, acontecendo-me muitas vezes ter tido de recorrer à ajuda dos colaboradores da farmácia, por vezes a meio de um atendimento. Também estas dificuldades, com o passar do tempo foram ultrapassadas, mediante a minha persistência, vontade de aprender e questionamento da equipa técnica.

Preparações de Uso Veterinário

Ao longo de toda a minha formação académica, os conhecimentos adquiridos nesta área não são de todo os mais adequados à realidade da maioria das farmácias comunitárias. Deste modo, considero que a cadeira de Preparações de Uso Veterinário (PUV) deveria sofrer uma remodelação, direcionando-se mais para as formulações presentes no mercado para as principais condições veterinárias que levam os utentes a procurar as farmácias.

A Farmácia do Bairro possui um *stock* adequado de PUV de forma a satisfazer as necessidades dos utentes, no entanto, senti algumas dificuldades no aconselhamento de determinados produtos, tendo sido necessário recorrer à equipa da farmácia de forma a conseguir proporcionar um atendimento mais especializado.

Oportunidades

Aplicação dos conhecimentos adquiridos

O estágio curricular é a melhor forma de aplicar todos os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do MICE, que nos dá as competências necessárias para iniciar a nossa vida profissional na área farmacêutica. É no estágio que, aplicando essas bases, conseguimos consolidar e ver a aplicabilidade dos conceitos teóricos adquiridos. É também nesta fase que obtemos a confiança necessária para proporcionar o melhor atendimento para a população, possibilitando-nos ultrapassar a inexperiência e insegurança iniciais.

Valorização do papel do farmacêutico

É cada vez mais evidente que a população demonstra uma valorização do papel do farmacêutico, tanto como agente de saúde pública como especialista do medicamento. Os utentes da Farmácia do Bairro valorizam bastante o farmacêutico, sendo que, muitas vezes, recorrem a nós para obterem uma melhor informação sobre a medicação que lhes foi prescrita. Para além do aconselhamento farmacoterapêutico nota-se uma procura crescente por aconselhamento na área de dermocosmética.

Portanto, é da nossa responsabilidade estar à altura desse papel e da confiança depositada em nós pelos utentes, através de uma atualização constante da nossa formação.

Cross-Selling

Entenda-se por *cross-selling* a “oferta ao cliente de produtos complementares àqueles que o cliente está disposto a comprar”, sendo esta uma das estratégias a ser utilizada na farmácia de oficina de forma crescente. (7) Esta técnica de *marketing* deve ser usada de forma ética e, como tal, apenas quando traz benefício para o utente. Representa uma forma do farmacêutico se diferenciar enquanto agente e profissional de saúde acrescentando valor ao atendimento e é, também, fundamental para aumentar a satisfação e fidelizar os utentes, diferenciando-nos da concorrência. A população que frequenta a Farmácia do Bairro tem um poder de compra razoável o que me permitiu, em algumas ocasiões, cruzar alguns produtos novos com aqueles solicitados pelo utente.

Número de estagiários

Durante o período de estágio, de abril a julho, fui, na maior parte do tempo a única estagiária a frequentar estágio na Farmácia do Bairro, uma vez que a minha colega estagiária, também ela da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, acabou o seu estágio em

meados de abril. Desta forma esteve apenas presente nas minhas primeiras duas semanas, o que se mostrou muito benéfico tanto porque estando ela já no fim do estágio já não necessitava de tanto apoio por parte da equipa fazendo com que o foco deles fosse mais dedicado a mim e porque, tendo ela passado pelo meu lugar, conseguia ajudar-me em algumas situações de *back office*. No final do meu estágio, a farmácia recebeu uma estagiária de verão, a qual acabei por também conseguir ajudar nas questões de entrada de encomendas e arrumação de medicamentos.

Ameaças

Medicamentos Genéricos e Marcas

A diferença entre medicamento genérico e medicamento de marca é algo que consigo sem dúvida apontar como sendo uma dúvida constante entre a maioria dos utentes da farmácia. Uma grande parte da população, em especial a idosa, ainda não consegue compreender que se tratam de fármacos bioequivalentes, em muito devido à diferença de preços em alguns casos ser bastante notória. Todas essas incertezas trazem desconfiança para o momento do atendimento relativamente à eficácia e segurança dos genéricos, as quais devem e são esclarecidas por todos os elementos da equipa.

Outro aspeto relevante é a gestão de *stock* necessária de forma a garantir que mediante as inúmeras opções de genéricos, a farmácia consegue ter, ao dispor do utente, os genéricos dos laboratórios que este costuma eleger, primando assim pela sua satisfação.

Locais de Venda de MNSRM

A aprovação do Decreto-Lei n.º 134/2005 de 16 de agosto, tornou possível a venda de MNSRM fora das farmácias. (6) Se antes as farmácias já se deparavam com concorrência na venda de produtos de dermocosmética, higiene, puericultura e outros, encontram agora também competição na venda de MNSRM. A venda destes produtos em grandes superfícies comerciais representam um grande prejuízo para as farmácias uma vez que muitas vezes essas superfícies conseguem praticar preços de venda ao público (PVP) mais reduzidos devido a compras em grandes quantidades, acabando por aliciar os utentes, fragilizando assim a faturação das farmácias e levando a uma banalização do medicamento e a uma dispensa isenta de aconselhamento farmacêutico especializado, contribuindo, assim, para o aumento da automedicação irresponsável.

Ruturas de stock / Medicamentos esgotados

A escassez de alguns medicamentos é, infelizmente, uma realidade da área farmacêutica. Ao longo do estágio fui-me deparando com alguns casos de fármacos para condições crónicas que se encontravam esgotados durante largos períodos de tempo e de outros que apenas podiam ser fornecidos às farmácias em quantidades reduzidas e previamente estabelecidas. Como consequência disso, ocorriam falhas de stock nas farmácias, impedindo o acesso a esses medicamentos por parte dos doentes, o que constitui um aspeto muito preocupante.

Perante isso, toda a equipa da Farmácia do Bairro, incluindo eu, desempenhava um esforço adicional para tentar obter respostas junto dos distribuidores e laboratórios de forma a haver atualizações quanto a essas questões, tentando sempre diminuir os constrangimentos para os utentes.

Oscilação constante do preço dos medicamentos

O surgimento de novos genéricos no mercado e a alteração do preço dos medicamentos de referência levam inevitavelmente a uma constante alteração das comparticipações. Como consequência disso, verificam-se alterações ao preço dos medicamentos, a pagar pelo utente, causando uma situação incómoda para os estes.

Perante isso, é necessário esclarecer os utentes para a razão dessas alterações, no entanto, há situações em que alguns utentes têm dificuldade em perceber e podem mesmo sentir alguma desconfiança, o que acaba por afetar o atendimento e a relação utente – farmacêutico.

COVID-19

O surgimento do SARS-COV-2 e toda a situação de pandemia e confinamento vividos ao longo de 2020 e 2021 levaram a uma adaptação forçada por parte de todos, nomeadamente por parte das farmácias que sempre estiveram na linha da frente durante todo esse período, nunca tendo fechado as portas para a população. Embora não tenha ficado impedida de realizar o meu estágio curricular, notei ainda algum receio por parte dos utentes no momento em que se deslocavam à farmácia, o que por vezes resultava em que pudesse haver uma menor abertura para esclarecimentos terapêuticos ou atendimentos mais personalizados devido ao desejo de alguns utentes de passarem pouco tempo na farmácia. No entanto, com o passar do tempo e com a melhoria do panorama geral da pandemia, esses constrangimentos foram diminuindo. Apesar de todas as mudanças e sacrifícios necessários, a Farmácia do Bairro manteve-se sempre aberta tendo como foco principal transmitir estabilidade, segurança e esperança a todos os seus utentes.

Casos Práticos

Caso Prático I

Uma utente do sexo feminino, por volta dos seus 20 anos, dirige-se à farmácia queixando-se de desconforto urinário. Após uma conversa com a utente percebi que esta manifestava uma constante necessidade de urinar (urgência miccional) e algum ardor no momento. Uma vez que já o tinha experienciado antes e, portanto, encontrava-se desconfiada de um possível início de infeção urinária, perguntou se existia algo que pudesse tomar de forma a aliviar a situação e impedir que progredisse para um quadro mais exacerbado. Assim sendo, recomendei-lhe a toma do RoterCysti[®], um MNSRM à base de extratos de folhas de uva-ursina, com a toma de 2 comprimidos duas vezes por dia durante 5 dias. Adicionalmente, recomendei a adoção de algumas medidas não farmacológicas de forma a aumentar a eficácia do tratamento, como a ingestão abundante de água, a evicção do uso de pensos diários, o não uso de roupas apertadas e a preferência por roupa interior de algodão.

Uma vez que a utente referiu já não ser a primeira vez que experienciava estes sintomas, achei importante questionar que produto utilizava durante a higiene íntima, ao que me respondeu que não utilizava nenhum produto específico. Como tal, recomendei-lhe o Woman Isdin Higiene Íntima, um gel para higiene íntima da mulher de uso diário, como forma de ajudar ao equilíbrio do pH da flora vaginal e promover uma melhor higienização, ajudando também a prevenir o aparecimento de infeções.

Numa vinda posterior à farmácia tive oportunidade de questionar se se sentia melhor ao que a utente respondeu afirmativamente, mostrando uma grande satisfação com a solução oferecida para o seu problema.

Caso Prático 2

Um utente do sexo masculino, com cerca de 50 anos dirigiu-se à farmácia com uma prescrição de amoxicilina + ácido clavulânico. Reconheci imediatamente o utente por já ter procurado a farmácia noutras ocasiões devido a afeções menores do trato gastrointestinal.

Recordando que anteriormente a esta situação tive a possibilidade de constatar que muitas prescrições trazem probióticos associados à toma de antibióticos como forma de prevenção da diarreia induzida por estes, e considerando o historial do utente e o facto de este antibiótico provocar frequentemente diarreia devida a uma desregulação da flora intestinal, questiono se o utente não quer acrescentar à venda um probiótico para prevenir este efeito secundário. O utente aceita e acaba por levar, juntamente com o antibiótico, uma embalagem de UL-250[®], um probiótico contendo *Saccharomyces boulardii*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio curricular é sem dúvida uma mais-valia para o encerramento de cinco anos de conhecimentos teóricos nas mais variadas áreas, proporcionados pelo MICF, uma vez que é a oportunidade perfeita para a consolidação de conhecimentos e aprendizagem de novas valências importantes no exercício da profissão.

Este estágio possibilita que fiquemos a par de todos os processos que fazem parte da rotina de uma farmácia comunitária, desde tudo o que se passa no *back office*, ao atendimento, faturação, regimes de comparticipação, receituário e gestão de *stocks*, trazendo com isso uma abertura para a realidade do mundo de trabalho e enriquecendo-nos como profissionais.

Esta experiência foi também fundamental para assegurar a minha convicção de que a farmácia comunitária se encontra no mesmo patamar de importância que outras áreas de atuação farmacêutica, como a investigação e indústria e que o farmacêutico comunitário tem um papel de extrema importância junto das populações, principalmente tendo em conta que a farmácia é muitas vezes o primeiro local a que os utentes recorrem com os mais diversos problemas e dúvidas. Para isso, a realização do estágio na Farmácia do Bairro foi um fator decisivo devido ao profissionalismo e disponibilidade de toda a equipa para comigo, uma vez que sempre tiveram total disponibilidade para esclarecer todas as minhas dúvidas e ajudar-me, assim, a obter a confiança necessária para conseguir oferecer o melhor atendimento e acompanhamento possíveis.

Em suma, este estágio revelou-se uma experiência única, tendo conseguido superar as minhas expectativas a todos os níveis. Ao farmacêutico é exigido uma grande diversidade de valências que necessitam de contante atualização, interesse e trabalho de forma a que ao utente chegue sempre um atendimento da maior qualidade possível, com base em evidências científicas atualizadas promovendo sempre o bem-estar e segurança do mesmo. Deste modo, fico feliz por poder dizer que todos os dias foram uma nova aprendizagem, e que é esse o meu desejo para o meu percurso no mercado de trabalho.

BIBLIOGRAFIA

- (1) – Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. (1988) 1–9. Disponível em: <https://www.ceic.pt/documents/20727/38736/Código+Deontológico+da+Ordem+dos+Farmacêuticos/0e2861ff-ab1f-4368-b6b8-ed097ba4eda3> (Consultado a 16/07/2021).
- (2) – INFARMED. Decreto-Lei n.º 172/2012, de 1 agosto. *Legis. Farm. Compil.* (2012) 1–7.
- (3) – DIÁRIO DA REPÚBLICA. Portaria n.º 1429/2007, de 2 de novembro. (2007). 7993-7993. Disponível em: <https://dre.pt/application/conteudo/629418> (Consultado a 05/08/2021).
- (4) – INFARMED. Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril. *Legis. Farm. Compil.* 14, (2004) 1–4
- (5) – Quem somos: ValorMed. Disponível em: <http://valormed.pt/paginas/2/spanquemspan-somos> (Consultado a 05/08/2021).
- (6) – MINISTÉRIO DA SAÚDE – Decreto-Lei n.º 134/2005. Diário da República, série I-A de 16 de agosto. (2005). Disponível em: <https://dre.pt/pesquisa/-/search/243692/details/maximized> (Consultado a 07/08/2021).
- (7) – HENRIQUE, J. S.; DA CUNHA, I. N.; COELHO, P. V.; CRUZ, P.; BOTELHO, R.; FARIA, G.; MARQUES, C.; GOMES, A. – Boas Práticas Farmacêuticas para a Farmácia Comunitária (BPF). *Cons. Nac. da Qualidade*, 3ª edição, (2009) 53.

PARTE II. RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

LABORATÓRIOS BASI

LISTA DE ABREVIATURAS

IJM	Unidade de Produção de Injetáveis
ITE	Instrução de Trabalho e de Equipamento
ITL	Instrução Técnica de Limpeza
LSM	Unidade de Produção de Líquidos e Semissólidos
LVP	Injetáveis de Grande Volume
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
SVP	Injetáveis de Pequeno Volume
SWOT	Do inglês, <i>Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats</i>

INTRODUÇÃO

De acordo com os Artigos 77º e 78º do Decreto-Lei n.º 288/2001, o Ato Farmacêutico abarca diversas áreas e valências para além do campo clássico da Farmácia de Oficina. (1) Assim sendo, o farmacêutico enquanto agente de saúde pública e especialista do medicamento tem um papel fulcral para o bem-estar da população. Sendo assim, é expectável que as funções do farmacêutico não se prendam apenas com a farmácia comunitária, mas que acompanhem todas as etapas inerentes ao circuito do medicamento, nomeadamente, ao nível da farmácia hospitalar, da indústria farmacêutica, da investigação científica, distribuição grossista, assuntos regulamentares, ensino farmacêutico e análises clínicas. (2)

Deste modo, e aproveitando a oportunidade oferecida pelo Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) na nossa Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra de realizar um segundo estágio, optei por realizar um estágio curricular numa indústria farmacêutica, de modo a contactar com uma outra realidade inerente à profissão farmacêutica. Assim sendo, optei pelos Laboratórios Basi, em Mortágua, para a realização do meu estágio, no qual tive oportunidade de pertencer ao suporte técnico de apoio à produção. Este estágio teve a duração de 3 meses, com início a 11 de janeiro e término a 9 de abril, sob a orientação da Dra. Sónia Garrido Santos.

O presente relatório, elaborado sob a forma de análise SWOT, do inglês, (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), tem como objetivo descrever de forma introspectiva e crítica os aspetos mais relevantes que decorreram ao longo do meu estágio nos Laboratórios Basi, descrevendo os seus pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças.

Laboratórios Basi

Os Laboratórios Basi situam-se no Parque Industrial Lourenço Ferreira, em Mortágua, e inserem-se no grupo farmacêutico FHC. Deste grupo fazem parte outras entidades como a FHC Farmacêutica, a Empifarma e a Overpharma que possuem o seu campo de atuação na área de distribuição e logística, a Zeone e Phagecon na área de consultoria e informática e os Laboratórios Basi e a Paracélsia na área de produção. (3) Os Laboratórios Basi situam-se atualmente em Mortágua e são uma empresa portuguesa com mais de 50 anos de história e cuja atividade assente na competitividade, eficiência e inovação lhes tem permitido crescer, tendo já conquistado diversos mercados desde a Europa, África, Médio Oriente, América Latina e Sudoeste Asiático. (4)

A empresa é constituída por cinco departamentos: o departamento de produção, no qual realizei o meu estágio, o departamento de controlo de qualidade, o departamento de garantia da qualidade, o departamento de assuntos regulamentares e o departamento de desenvolvimento galénico. O departamento de controlo de qualidade assegura a qualidade de todas as matérias primas, acondicionamentos utilizados e produto acabado através da realização de ensaios físico-químicos, microbiológicos e de estabilidade. O departamento de garantia da qualidade assegura que todas as operações de produção se encontram devidamente descritas em procedimentos operacionais, desenvolve programas de validação de processos e de limpeza e calibra e qualifica todos os equipamentos e instrumentos usados na produção e no controlo de qualidade. No departamento de desenvolvimento galénico, realizam-se estudos com vista tanto ao desenvolvimento de novas formulações e produtos farmacêuticos como à melhoria dos processos de fabrico já existentes. Já o departamento de assuntos regulamentares procura resolver todas as questões relacionadas com a aprovação regulamentar do medicamento durante todo o seu ciclo de vida.

Relativamente ao departamento de produção, este é atualmente dividido em duas grandes unidades. A unidade de produção de líquidos e semissólidos (LSM) e a unidade de produção de injetáveis (IJM). Em LSM produzem-se geles, cremes, pomadas, soluções e suspensões orais, soluções cutâneas e emulsões, enquanto que em IJM temos duas linhas de produção, uma de injetáveis de pequeno volume (SVP) onde se produzem ampolas e outra de injetáveis de grande volume (LVP) com a produção de frascos. Para além destas formulações, os Laboratórios Basi possuem ainda linhas de acondicionamento secundário de formas farmacêuticas sólidas, nomeadamente cápsulas e comprimidos. (5)

Departamento de Produção

Toda a empresa foi pensada e estruturada de forma a evitar a contaminação cruzada tendo por base o fluxo lógico das diferentes atividades que decorrem no seu interior, em especial nas áreas de produção e laboratórios do controlo de qualidade. Tanto a zona de produção de IJM como de LSM possuem um armazém, uma zona não classificada de embalagem, e diversas zonas classificadas consoante a etapa do processo de fabrico. A entrada em qualquer uma destas áreas, desde o armazém até à zona de maior classificação apenas pode ser feita por colaboradores autorizados e, com acesso para tal, e com o equipamento necessário e apropriado. (6) Assim, em LSM temos o armazém, zona não classificada de embalagem, zona classificada D e zona classificada C, e, em IJM, para além das zonas existentes em LSM, existe ainda uma zona classificada B.

O fardamento para a zona de armazém consiste numa *t-shirt* e num fato de macaco de cor cinzenta. O fardamento para entrar na zona não classificada de embalagem, consiste numa *t-shirt* e num fato de macaco de algodão de cor branca com gola verde (pessoal da embalagem), gola vermelha (pessoal da higienização) ou gola azul (pessoal da manutenção), sapatos de zona não classificada e touca. O fardamento da zona classificada D consiste numa *t-shirt* e num fato de macaco de algodão de cor branca com gola branca, sapatos de zona classificada D e touca. Na zona C, temos uma *t-shirt*, fato e meias, todos eles de um material apropriado de forma a reduzir a libertação indesejada de fibras, sapatos de zona classificada C, duas toucas e luvas. A zona classificada B possui já um fato único completo dos pés à cabeça impedindo qualquer fenda por onde possa haver libertação de fibras, células ou outra matéria indesejada.

Por razões óbvias de segurança e seguindo sempre as boas práticas de fabrico de medicamentos, o acesso a todas estas zonas é feito apenas mediante acessos restritos e formações regulares a todos os colaboradores. (6) Também por essas razões e por serem as zonas de maior interesse e de maior necessidade do meu trabalho, o meu acesso consistia apenas na zona de embalagem e na área classificada D, tendo, no entanto, também tido a oportunidade de entrar acompanhada em zonas de classe C de forma a contactar tanto com o fardamento como com os processos de fabrico realizados nessas áreas, nomeadamente, na pesagem de matérias primas e no enchimento de injetáveis de grande volume.

Uma vez que a unidade de injetáveis se encontra ainda no início do seu crescimento e, como tal, é o local onde há mais melhorias a implementar, a maior parte do meu tempo de estágio foi passado lá, inicialmente na produção propriamente dita, ou seja, na zona classificada D, onde fui acompanhada pelo Dr. João Laranjeira, e sensivelmente a meio, na parte da

embalagem, sob orientação da Dra. Sónia Garrido Santos. Deste modo, consegui acompanhar de forma lógica todos os processos, desde a pesagem de matérias primas, à preparação e mistura das mesmas, enchimento e esterilização e, posteriormente, rotulagem, inspeção e embalamento, tanto da linha de injetáveis de grande volume como da linha de injetáveis de pequeno volume. Tive também a oportunidade de durante dois dias acompanhar os processos de produção da unidade de líquidos e semissólidos, o que me permitiu ver as diferenças existentes nos processos de fabrico. Diferenças essas devidas tanto às próprias formas farmacêuticas, como devidas às diferenças nas instalações uma vez que, como a unidade de IJM foi construída mais recentemente que a unidade de LSM, se encontra muito mais moderna e com os processos muito mais automatizados.

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de realizar diversas tarefas, das quais destaco as seguintes:

- Leitura dos procedimentos operacionais relativos a cada uma das etapas de produção com posterior observação no local dos processos em ação. Para isso foi-me dada a oportunidade de a cada dia acompanhar um operador diferente no seu dia de trabalho normal, tendo, assim, conseguido aperceber-me das rotinas e procedimentos a seguir bem como de alguns problemas mais comuns que podem surgir e condicionar a produção.

- Realização de inventários do material existente, mais especificamente dos filtros usados na etapa de mistura das linhas de SVP e LVP.

- Implementação de um *software* de *Tracking* de tempos e números de produção para IJM semelhante ao que já se encontrava em vigor em LSM, onde para isso contei com o apoio da pessoa responsável por essa tarefa em LSM. O meu trabalho consistiu fundamentalmente em elaborar folhas de *tracking* nas quais os colaboradores preenchem o número de unidades produzidas no seu turno e o número de unidades que foram rejeitadas pelos diversos pontos de controlo da linha em questão, dados esses que depois de tratados permitiam obter os rendimentos e as percentagens de rejeição. Para além disso elaborei também quadros com diversos pontos nomeadamente, o tempo de produção e os diversos motivos de paragens, desde motivos humanos, como refeições, atrasos, ou trocas de turno; motivos inerentes ao processo, como lavagem e esterilização dos reatores; e ainda motivos intrínsecos aos equipamentos, como falhas e avarias técnicas. Desta forma foi-me necessário tentar perceber junto dos colaboradores quais os principais motivos de paragem para conseguir elaborar tabelas o mais corretas e apropriadas possível. Depois disso, fiz o tratamento dos dados através da passagem destes para uma folha de *excel*, permitindo assim identificar quais os motivos de paragem mais frequentes e daí conseguir tirar conclusões do que se tem de

melhorar. Posteriormente, estava também responsável por elaborar *reports* diários e semanais desses mesmos dados de forma a apresentá-los aos responsáveis de cada linha numa pequena reunião de equipa.

- Elaboração de diversos procedimentos que estavam ainda em falta devido ao reduzido tempo em funcionamento da unidade de IJM, dos quais destaco:

- a) Instruções de Trabalho e Equipamento (ITE) de máquinas que se encontram nas linhas da produção, nomeadamente, para a Estação de inspeção Seidenader, que faz a inspeção semi-manual de ampolas, e da Câmara de Fluxo Laminar onde os *trays* com ampolas ficam a secar em *trolleys* após a sua esterilização em autoclave.
- b) Instruções Técnicas de Limpeza (ITL), por exemplo, da Máquina de inspeção Lynx, que faz a inspeção dos injetáveis de grande volume, e do Autoclave de Grandes Volumes.

- Acompanhamento da produção de um lote de Investigação e Desenvolvimento de Ciprofloxacina, como forma de avaliar a sua viabilidade de produção em larga escala.

- Análise crítica de uma proposta de fabrico de um novo produto, ampolas de 20 mL de Propofol 10 mg/mL, na qual me foi confiada a responsabilidade de análise do processo de fabrico proposto pelo cliente e avaliação da sua exequibilidade. Nessa análise foi necessário avaliar quais os desafios tecnológicos mais relevantes e a capacidade e disponibilidade dos nossos equipamentos tendo em conta o processo sugerido. Após discussão e aprovação inicial do processo de fabrico que melhor se adaptou ao produto e às instalações dos Laboratórios Basi, passou-se para os estudos de Investigação e Desenvolvimento com produção de lotes laboratoriais para avaliação da sua viabilidade em pequena escala. Para isso acompanhei todo o processo de fabrico no laboratório de Investigação e Desenvolvimento, o que foi muito benéfico uma vez que me permitiu contactar com outra realidade e etapa anterior à produção em escala industrial.

Análise SWOT

Respeitando as normas orientadoras, o presente relatório toma a forma de uma análise SWOT, onde são discutidos, na dimensão interna, os Pontos Fortes e os Pontos Fracos e, na dimensão externa, as Oportunidades e as Ameaças.



Figura I – Representação esquemática da Análise SWOT do estágio em Indústria Farmacêutica.

Pontos Fortes

Formação Académica

O MICF da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra proporciona aos seus estudantes vastos conhecimentos que se revelam extremamente úteis aquando da realização deste estágio curricular em indústria farmacêutica, através de variadas unidades curriculares, tais como Farmácia Galénica, Métodos Instrumentais de Análise, Tecnologia Farmacêutica, Assuntos Regulamentares e Gestão e Garantia da Qualidade. Ao longo destes quatro anos e meio de formação, o contacto com as dimensões teórica e prática das várias unidades curriculares, permitiu-me uma integração mais fácil na área de produção de uma indústria

farmacêutica, uma vez que estava já familiarizada com alguns dos termos e técnicas com que me deparei no decurso do estágio.

Instalações

Os Laboratórios Basi são constituídos por duas grandes unidades, a de LSM e a de IJM. Ambas se encontram dentro de um complexo fechado com segurança e estacionamento próprios. Na unidade de LSM, podemos encontrar os departamentos de produção de líquidos e semissólidos, de controlo de qualidade e de desenvolvimento galénico, e ainda, associado ao espaço da produção, uma zona de cargas e descargas de matérias primas e produto acabado. Na unidade de IJM temos uma zona de produção de injetáveis e uma zona de armazém. Esta unidade está agregada às instalações do edifício principal, onde encontramos a receção, cantina, zona de descanso e *Open Space*, uma área estilo escritório onde trabalham equipas dos diferentes sectores, nomeadamente, a garantia da qualidade, assuntos regulamentares, logística e compras.

A presença e o livre acesso à cantina foi também uma mais-valia visto que me permitiu ter acesso, durante todos os dias do meu estágio, a uma refeição de almoço de forma gratuita, a qual se revelou bastante completa tanto a nível nutricional como de oferta de escolhas. É sem dúvida um fator de satisfação para todos os colaboradores.

Entidade Acolhedora

Desde o primeiro dia de estágio que se notou um esforço por parte de todos os colaboradores da empresa de forma a receberem e integrarem os estagiários da melhor forma possível. No primeiro dia fui recebida por um colaborador dos recursos humanos, tendo tido uma receção igual à de um novo colaborador. Foram-me mostradas as instalações principais como a cantina, zona de convívio e descanso e receção e fui posteriormente encaminhada para uma pessoa da produção, o Dr. João Laranjeira, que me apresentou o sítio e alguns dos colaboradores, nomeadamente a minha orientadora e responsável pelo departamento de produção, a Dra. Sónia Garrido Santos, com quem iria contactar ao longo do meu estágio. O resto da manhã foi passado a ler normas e procedimentos da empresa como forma de integração nas rotinas da mesma.

Da parte da tarde e no dia seguinte assisti, em conjunto com os restantes estagiários, a formações de integração que me permitiram perceber o enquadramento da empresa, os respetivos cargos e hierarquias e o tipo de tarefas desempenhadas em cada setor. Foi-nos também proporcionada uma visita às instalações dos Basi, onde ficámos a conhecer ambas unidades, de LSM e de IJM.

Consciencialização ambiental e gestão de resíduos

Desde o início do estágio, começando logo pelas formações, que nos foi inculcido, pela empresa, um espírito ativo no que toca à preservação do meio ambiente e a uma gestão responsável de todos os resíduos. Em cada sala tínhamos ao nosso dispor diversos contentores com vista à separação dos resíduos, tais como, plástico, papel, vidro, resíduos halogenados, resíduos não-halogenados e resíduos indiferenciados. Os contentores encontravam-se assim diferenciados com sacos de cores diferentes e devidamente identificados. Devido ao facto de a indústria farmacêutica muitas vezes utilizar substâncias tóxicas para o meio ambiente e para os seres vivos é importante que haja esta preocupação como forma de os reduzir ao máximo e de lhes dar o tratamento adequado. Sendo o farmacêutico um agente de saúde pública, tem a obrigação e o dever de cuidar do meio ambiente.

Pontos Fracos

Insegurança inicial

Uma vez que este estágio serviu como primeiro contacto com uma indústria farmacêutica e, como tal, a experiência no meio era inexistente surgiu inicialmente alguma insegurança da minha parte face à exposição a esta nova realidade. Sendo o departamento de produção o departamento que mais contacta diretamente com o produto e por isso um dos que tem procedimentos mais restritos, por exemplo no que toca ao vestuário, a responsabilidade sentida foi ainda maior. Apesar disso, mediante o meu esforço e empenho e a disponibilidade de toda a equipa da produção tornou-se possível ultrapassar esses receios e maximizar a minha experiência de estágio.

Ausência de um plano de estágio

Desde o início do estágio, que me apercebi da ausência de um plano de atividades. Tal facto, tornou-se um fator limitante já que, tendo em conta o tempo reduzido, teria sido importante delinear as atividades de forma a permitir usufruir ao máximo deste estágio. A ausência de um plano de estágio e talvez alguma falta de orientação da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para com os Laboratórios Basi, resultaram em que, muitas vezes, especialmente no início do meu estágio me sentisse um pouco perdida. A meu ver, tal deveu-se também ao facto de inicialmente quem me estar a acompanhar não ser um farmacêutico e como tal não estar a par dos objetivos do meu estágio, resultando em que muitas vezes ele próprio não soubesse que tarefas me deveria inculcir.

Como forma de contornar essa situação procurei sempre ter uma postura proativa e tentar propor atividades que complementassem a minha experiência de estágio, o que permitiu que conseguisse ultrapassar essa situação. Após algum tempo de estágio, e com a passagem para a zona de embalagem, o contacto mais próximo com a minha orientadora, Dra. Sónia Garrido Santos, também permitiu um maior acompanhamento e usufruto do meu estágio, com tarefas mais desafiantes e adaptadas ao meu papel como futura farmacêutica.

Oportunidades

Estágio diferenciador

A realização de um estágio curricular é uma fase do percurso académico de todos os estudantes do curso de MICE, no entanto, na maior parte das faculdades apenas é permitido realizar estágio em farmácia comunitária e/ou hospitalar, enquanto que a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra nos oferece a oportunidade de realizar estágio noutras áreas, nomeadamente na indústria farmacêutica. Como tal, trata-se de uma oportunidade difícil de desperdiçar, especialmente quando existe um interesse prévio na área como era o meu caso. Estes três meses de estágio nos Laboratórios Basi contribuíram indubitavelmente de forma positiva para o desenvolvimento de competências tanto pessoais como profissionais e, como tal, estou certa de que estas serão uma mais-valia aquando do ingresso no mundo do trabalho.

Enriquecimento pessoal e profissional

O rigor e a exigência presentes em todo o trabalho realizado diariamente no departamento de produção permitiram colocar as minhas competências à prova. Como tal, foi notório que com o evoluir do tempo houve um ganho de confiança e autonomia no meu trabalho, onde o fomento ao meu espírito crítico e a valorização da minha opinião e trabalho por parte da minha orientadora e restantes colaboradores com que contactei, desempenharam um papel fundamental. Este estágio foi assim uma oportunidade de elevada importância para a minha formação, tanto pessoal como profissionalmente, pelo que posso apenas agradecer a disponibilidade e atenção demonstradas por todos, já que me permitiu adquirir alguma experiência e competências que de outra forma não teria conseguido.

Polivalência das tarefas realizadas

Tal como já tive oportunidade de referir, embora com alguma falta de acompanhamento inicial, o meu estágio revelou-se bastante variado no que toca às tarefas

realizadas, desde o acompanhamento de todos os processos, à implementação de *softwares* de melhoria de produção, à elaboração de procedimentos em falta que se encontram atualmente em uso pela empresa e correção de outros que se encontravam desatualizados, ao acompanhamento das etapas iniciais inerentes à produção industrial de novos produtos, realização de inventários de produtos, elaboração de ferramentas e esquemas de sistematização dos passos a dar durante uma validação de linha, entre outros. Esta polivalência das tarefas realizadas foi sem dúvida uma vantagem pois permitiu que, no curto espaço de tempo de três meses, pudesse ter contacto com as mais variadas tarefas.

Empresa em crescimento

A inauguração relativamente recente da unidade de injetáveis é um claro sinal de que a empresa se encontra numa fase de expansão tendo em vista o crescimento no mercado nacional e internacional. No atual contexto socioeconómico, este é um indicador bastante positivo de recuperação económica e de investimento na área da saúde que poderá deixar uma porta aberta para uma possível integração profissional no futuro. O contacto com uma unidade de produção que se encontra ainda numa fase inicial e na qual ainda é necessário fazer muitos ajustes, foi sem dúvida alguma uma mais-valia porque permitiu-me ter um papel ativo nessa melhoria e perceber quais são os maiores obstáculos sentidos e as melhores formas para os detetar e posteriormente corrigir.

Ameaças

Peso do farmacêutico na Produção

Durante todo o percurso letivo no MICEF, o farmacêutico é apresentado como tendo um papel imprescindível no seio da indústria farmacêutica. E, de facto, em alguns departamentos dos Basi conseguimos encontrar um elevado número destes profissionais, em particular nos assuntos regulamentares e nos cargos de direção técnica. No entanto, ao contrário do que pode acontecer noutros departamentos, na unidade fabril de produção encontramos um número muito reduzido de farmacêuticos comparativamente com outros profissionais nomeadamente engenheiros, cujas competências de gestão e tecnologia acabam por ser uma mais-valia no momento de contratação para determinadas funções.

Apesar de nós farmacêuticos, termos formação em tecnologia farmacêutica, penso que essa formação é mais focada em aspetos químicos como nas características, vantagens e desvantagens das diferentes formas farmacêuticas e funções dos excipientes, e não tanto na parte mais tecnológica dos equipamentos utilizados na produção dessas mesmas formas

farmacêuticas. Embora alguns conhecimentos venham depois com os anos de prática profissional, penso que poderão existir algumas lacunas ao nível do funcionamento dos equipamentos mais utilizados em indústria e que isso possa resultar numa ocupação de cargos, à primeira vista feitos para farmacêuticos, por outros profissionais. Por esse motivo, penso que o peso do farmacêutico na parte da produção de uma indústria farmacêutica, poderá estar de certa forma ameaçado, no entanto, cabe-nos a nós mudar isso e mostrarmos o nosso valor como especialistas do medicamento e mudar o cenário atual, através de uma valorização pessoal e profissional, com recurso a formações ou pós-graduações na área.

Inexistência de uma linha de produção de formas farmacêuticas sólidas

Os Laboratórios Basi são uma indústria farmacêutica, que embora se encontre em franco crescimento, apresenta ainda reduzidas dimensões. Embora as linhas de produção de injetáveis tenham sido uma ótima adição, a inexistência de linhas de produção de formas farmacêuticas sólidas foi notada, dado que, em todo o meu estágio não consegui ter contacto com essa realidade. Apenas contactei com a realidade de linhas de produção de líquidos (soluções, emulsões, suspensões e xaropes), semissólidos (cremes, pomadas e geles), injetáveis de pequeno volume (ampolas) e injetáveis de grande volume (frascos), ficando assim a faltar experiência com linhas de produção de sólidos, como cápsulas ou comprimidos, que constituem atualmente uma grande percentagem de todas as formas farmacêuticas mais produzidas e comercializadas.

COVID-19

Não poderia deixar de mencionar a pandemia da COVID-19 que, embora não me tenha impossibilitado de realizar um estágio presencial em indústria, acabou por condicionar a experiência de alguma forma. Desde a limitação de pessoas a espaços comuns com o distanciamento social e a insegurança sentida, que levaram a que algumas vezes se tornasse mais difícil a integração e o convívio entre colaboradores especialmente de outros departamentos, até ao facto de alguns estágios noutros departamentos terem sido passados para o regime de teletrabalho o que dificultou a minha deslocação visto que fazia o trajeto Coimbra-Mortágua e Mortágua-Coimbra todos os dias e que, com isso, perdi a possibilidade de partilhar boleias com esses colegas.

Apesar disso revelou-se também, numa oportunidade de crescimento pessoal e profissional que me trará certamente benefícios no futuro, já que a nossa profissão, seja ela em que área for, é pautada de mudança e é nossa obrigação estarmos aptos a lidar com ela.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização de um estágio em indústria farmacêutica, mais particularmente nos Laboratórios Basi, é sem dúvida uma grande oportunidade que a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra nos oferece. Ao longo deste estágio tive a possibilidade de perceber o funcionamento e dinâmica de uma indústria farmacêutica, em especial da área de produção, que sempre foi uma das áreas de maior interesse da minha parte.

Os três meses de estágio permitiram-me contactar com diversas situações e ser confrontada com novas realidades que puseram à prova as minhas capacidades e das quais saí enriquecida tanto pessoal como profissionalmente. A fase inicial de crescimento em que se encontra a linha de injetáveis foi sem dúvida alguma uma mais-valia uma vez que me permitiu ter um papel ativo na melhoria tanto dos processos, com a implementação de ferramentas de avaliação de produtividade, como das questões mais logísticas com a criação de procedimentos em falta. Estou certa de que este contacto inicial com uma indústria farmacêutica será algo a ter em conta como fator diferenciador no acesso ao mercado de trabalho nesta área, quando em comparação com outros farmacêuticos recém-formados sem qualquer contacto com a mesma.

Deste modo, o estágio curricular nos Laboratórios Basi, pode sem dúvida ser considerado como uma oportunidade que em muito contribuiu para o meu futuro como farmacêutica e profissional de saúde e para a minha percepção do seu papel e importância nesta grande área de atuação do farmacêutico que é a indústria.

BIBLIOGRAFIA

- (1) – Decreto-Lei n.º 288/2001 de 10 de novembro. 7150–7165. Disponível em: https://dre.pt/application/file/a/607644_(Consultado a 06/02/2021)
- (2) – PITA, J. R.; BELL, V. (2016). – A farmácia em Portugal nos últimos 30 anos. Algumas reflexões sobre a farmácia de oficina ou comunitária. *Debater a Europa*, (15), 197-215. Disponível em: https://impactum-journals.uc.pt/debatereuropa/article/view/_15_11/3005 (Consultado a 06/02/2021).
- (3) – FHC | FARMACÊUTICA – Grupo FHC. Disponível em: <https://www.fhc.pt/grupo-fhc/> (Consultado a 06/02/2021).
- (4) – Laboratórios Basi. Disponível em: <https://www.basi.pt/> (Consultado a 11/02/2021).
- (5) – Laboratórios Basi – Indústria Farmacêutica, S. A. – Relatório & Contas 2019. Disponível em: <https://www.basi.pt/wp-content/uploads/2021/02/2019.pdf> (Consultado a 06/02/2021).
- (6) – EudraLex – Volume 4 Good manufacturing practice (GMP) Guidelines. Disponível em: https://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4_en (Consultado a 17/04/2021).

PARTE III. MONOGRAFIA

“INFLUÊNCIA DA MICROBIOTA INTESTINAL NO ENVELHECIMENTO”

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AMP's	Peptídeos Antimicrobianos. Do inglês, <i>Antimicrobial Peptides</i>
DC	Doença Cardiovascular
FOS	Fruto-oligossacarídeos
GOS	Galacto-oligossacarídeos
IL-6	Interleucina 6
IL-12	Interleucina 12
MAMP's	Padrões Moleculares Associados a Micróbios. Do inglês, <i>Microbe Associated Molecular Patterns</i>
mTL	Comprimento dos Telómeros Metilados. Do inglês, <i>Methylated Telomere Length</i>
NF-kB	Fator Nuclear Kappa B nuclear. Do inglês, <i>Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer Of Activated B Cells</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAMP's	Padrões Moleculares Associados a Patogénios. Do inglês, <i>Pathogen Associated Molecular Patterns</i>
PCR	Proteína C Reativa
SCFA's	Ácidos Gordos de Cadeia Curta. Do inglês, <i>Short Chain Fatty Acids</i>
SNE	Sistema Nervoso Entérico
TGI	Trato Gastrointestinal
TL	Do inglês, <i>Telomere Length</i>
TMAO	N-Óxido de Trimetilamina. Do inglês, <i>Trimethylamine N-oxide</i>
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa. Do inglês, <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>

RESUMO

O microbioma humano define-se como o conjunto de todos os microrganismos e dos seus genes que habitam o corpo humano, e, o seu desenvolvimento ocorre de forma dinâmica e contínua ao longo da vida. O trato gastrointestinal, e mais precisamente, o intestino, é o local do organismo humano onde se verifica uma maior diversidade e abundância de microrganismos, pelo que a microbiota intestinal adquire um papel de destaque nos estudos referentes ao microbioma humano.

A relação existente entre a microbiota e o hospedeiro que esta habita leva a que situações de desequilíbrio na composição e funções da microbiota, conhecidas como disbiose, se traduzam num desequilíbrio da homeostasia do hospedeiro e, em alguns casos, no desenvolvimento de patologias.

Durante o envelhecimento, são vários os aspetos que se alteram, verificando-se um aumento da vulnerabilidade e a instalação de um estado denominado de *inflammaging*, que se caracteriza por uma resposta inflamatória crónica e sistémica de baixo grau. São várias as causas apontadas para o desenvolvimento desse estado inflamatório crónico, destacando-se a senescência celular, o aumento do *stress* oxidativo, o encurtamento dos telómeros e a própria microbiota intestinal.

Com um envelhecimento da população mundial cada vez mais presente, torna-se fundamental perceber o processo de envelhecimento e desenvolver mecanismos que o possam vir a retardar, e, a manipulação da microbiota intestinal parece, cada vez mais, ser uma boa estratégia.

Palavras-chave: Microbioma Humano, Microbiota Intestinal, Disbiose, Envelhecimento, *Inflammaging*, Manipulação da Microbiota Intestinal.

ABSTRACT

The term human microbiome refers to all microorganisms and its genetic code, that inhabit the human body. Its development occurs dynamically and continuously throughout the host's lifetime. The gastrointestinal tract, and more precisely the gut, it's the place in the human organism where we find a greater diversity and abundance of microorganisms. For that reason, the gut microbiota acquires a prominent role in studies related to the human microbiome.

The relationship between the microbiota and the host leads to situations of imbalance in the composition and functions of the microbiota, known as dysbiosis, leading to the disruption of the host's homeostasis and, in some cases, to the development of pathologies.

During aging there are several aspects that change, such as the increase in vulnerability and the settlement of a state called inflammaging, which is characterized by a low-grade chronic and systemic inflammatory response. There are several causes for the development of that chronic inflammatory state, highlighting cell senescence, increased oxidative stress, shortening of telomeres and the gut microbiota itself.

As the aging rates of the elderly world population increase, it becomes more imperative to understand the aging process and develop mechanisms that are able to slow down that same process. The gut microbiota manipulation seems to be one of the best strategies to be considered.

Keywords: Human Microbiome, Gut Microbiota, Dysbiosis, Aging, Inflammaging, Gut Microbiota Manipulation.

INTRODUÇÃO

Recuando umas décadas, facilmente recordamos que o fator que nos distinguiu enquanto indivíduos era a nossa carga genética. E embora isso continue a ser, ainda que parcialmente, verdade, temos hoje algo ainda mais único e característico da nossa individualidade, o nosso microbioma.

O termo microbioma abarca toda a comunidade de microrganismos comensais, patobiontes e até mesmo patogênicos que habitam o nosso organismo sejam eles bactérias, vírus, *archae* e alguns eucariotas unicelulares, bem como os genes a eles associados.

Falando em números, um microbioma humano saudável é constituído por dezenas de bilhões de microrganismos e por mais de 3 milhões de genes, o que comparado com o número de genes humanos equivale a qualquer coisa como 150 vezes mais. Para além desta diferença estonteante, algo que pode ajudar a perceber ainda melhor a singularidade do nosso microbioma é a análise de casos como o de gêmeos verdadeiros que podem chegar a partilhar cerca de 99,9% do seu genoma, mas que no que toca ao microbioma a percentagem não é superior a 30%.

É no intestino que se concentra a maior atenção quando estudamos a microbiota, quer por ser onde se encontra o maior número e diversidade de microrganismos quer pelo cada vez maior destaque que o intestino tem vindo a adquirir, nomeadamente ao nível da correlação intestino-cérebro. Como tal, esta monografia recai sobre a microbiota intestinal em particular. Esta, como já foi dito, compreende uma comunidade extremamente diversa e não estática de microrganismos que habitam o trato gastrointestinal. De facto, ao longo da vida existem desvios ao nível da composição da microbiota, sendo esses, na sua maioria, inevitáveis, normais e benignos. No entanto, cada vez mais estudos apontam que, alterações na microbiota intestinal têm um forte impacto em estados de saúde e doença do hospedeiro.

A microbiota humana sofre os desvios mais proeminentes durante a infância e o envelhecimento e, curiosamente, é também nessas etapas que o sistema imunológico se apresenta no seu estado mais frágil e instável, o que parece indicar que a nossa microbiota e saúde andam de mãos dadas.

Quanto ao envelhecimento, é do conhecimento geral que são vários os aspetos fisiológicos que se alteram, tanto a nível celular e molecular como físico e social. A maior fragilidade sentida nessa altura da vida é aqui abordada na tentativa de perceber se será a origem ou a consequência de alterações ao nível do microbioma intestinal humano.

Ora, com o aumento da duração média de vida, e com o envelhecimento da população mundial cada vez mais presente, torna-se fundamental perceber o envelhecimento humano e desenvolver mecanismos que permitam prevenir e atuar no sentido de tornar esta inevitabilidade o mais confortável e saudável possível.

Assim sendo, a presente monografia tem como objetivo explorar um pouco mais desta relação entre a microbiota intestinal e o envelhecimento e tentar estabelecer relações de causa e efeito que possam contribuir para um envelhecimento saudável. Para além disso, pretende-se apontar algumas estratégias que possam vir a ser a solução para o prolongamento e qualidade da vida, quer por diminuição da incidência de determinadas doenças quer pela possibilidade de reversão das mesmas.

A Microbiota Humana

A microbiota define-se como o conjunto de todos os microrganismos (bactérias, *archae*, vírus e pequenos eucariotas) que habitam um determinado ambiente. Já o microbioma, é um termo que surgiu como forma de referência do genoma dos microrganismos que constituem essa mesma microbiota. (Cani, 2018)

Durante o processo evolutivo estabeleceu-se uma forte ligação entre o hospedeiro e estes microrganismos tendo-se desenvolvido diversas relações mutuamente benéficas. No entanto essas relações não se criaram aleatoriamente estando dependentes de diversos fatores, uns intrínsecos ao hospedeiro, outros intrínsecos aos microrganismos e outros ainda dependentes do meio ambiente. Sendo assim, são necessárias algumas características para que essa colonização ocorra, tais como, a existência de um conjunto de enzimas específicas para a degradação dos nutrientes disponíveis no meio, um padrão molecular próprio para a ligação da superfície celular ao *habitat* certo, como por exemplo, o lúmen intestinal e a capacidade de escapar a ataques do sistema imunológico do hospedeiro. (Adak e Khan, 2019)

O Microbioma Intestinal Humano

O ser humano possui microrganismos em diferentes partes do corpo, mas é no trato gastrointestinal (TGI) que se concentra a maior diversidade e densidade populacional. A nossa microbiota intestinal é composta por bilhões de microrganismos, entre eles mais de 1000 espécies de bactérias conhecidas até hoje. Apesar de uma percentagem desses microrganismos ser comum à maioria das pessoas, a maior parte é específica de cada indivíduo não existindo duas pessoas com mais do que 30% de semelhanças ao nível da microbiota. (Sommer e Bäckhed, 2013)

O trato gastrointestinal é o local que apresenta maior diversidade e densidade populacional de todo o corpo humano, mas essas diferenças em número e em espécie também se verificam ao longo do próprio TGI (Fig.1). (Adak e Khan, 2019)

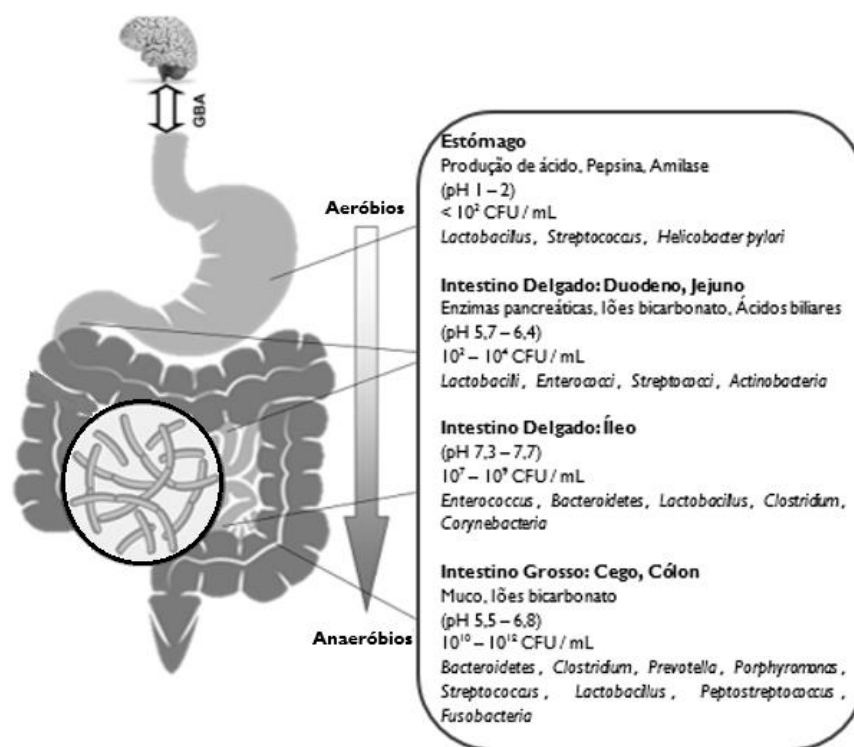


Figura 1 – Representação esquemática da distribuição normal da microbiota ao longo do TGI.
[Adaptado de Adak e Khan, 2019]

Primeiramente, nota-se um aumento do número de microrganismos à medida que descemos ao longo do TGI, começando no estômago onde temos cerca de 10^1 microrganismos por grama de conteúdo intestinal e terminando no cólon onde o número de microrganismos por grama de conteúdo intestinal atinge os 10^{12} . (Sommer e Bäckhed, 2013)

No que concerne às próprias espécies que habitam as diferentes porções do TGI notam-se também diferenças. Ao nível do estômago encontramos um grande número de bactérias resistentes ao conteúdo ácido deste local, e cerca de 65% dessas são provenientes da boca. Um estômago saudável é normalmente habitado por 5 grandes filos, com especial destaque para os filos *Firmicutes* e *Proteobacteria* e para os géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Veillonella* (*Firmicutes*), *Prevotella*, (*Bacteroidetes*), *Rothia* (*Actinobacteria*) e *Haemophilus* (*Proteobacteria*). (Adak e Khan, 2019)

Ao nível do intestino delgado a microbiota varia consoante as diferentes porções. No duodeno, devido às secreções pancreáticas e biliares e à presença de alimentos e oxigênio, os filos predominantes são os *Firmicutes* e *Actinobacteria*; no jejuno encontramos uma densidade na ordem dos 10^{3-7} microrganismos por grama de conteúdo intestinal, sendo estes predominantemente aeróbios e anaeróbios facultativos, gram-positivo; e no íleo, à medida que

nos aproximamos da válvula ileocecal aumenta a proporção de organismos gram-negativo e anaeróbios. (Adak e Khan, 2019)(Sommer e Bäckhed, 2013)

No intestino grosso, devido ao baixo trânsito intestinal e à elevada absorção de água e fermentação, encontramos a maior proporção de organismos anaeróbios de todo o TGI e os filos dominantes são os *Firmicutes* e *Bacteroidetes*. A razão entre estes dois filos varia ao longo da vida e com as condições fisiopatológicas, por isso é considerado um bom marcador preditivo de estados de saúde e doença. (Adak e Khan, 2019)

Colonização

Para além da diversidade de espécies e do número verificadas ao longo do TGI, encontramos também uma evolução temporal na colonização do intestino por estes microrganismos. O facto de a colonização microbiana se iniciar com o nascimento e estar dependente do tipo de parto, já se encontra estabelecido há alguns anos, no entanto, estudos recentes apontam para que essa colonização comece ainda antes do nascimento, na fase pré-natal.

A observação de micróbios na placenta, cordão umbilical e mecónio de recém-nascidos veio abalar a teoria de que o ambiente intrauterino seria estéril até ao momento do nascimento. Assim, surgem as primeiras evidências de que a relação entre a microbiota materna e a microbiota fetal começa antes do nascimento. (Collado *et al.*, 2016)

Posteriormente, o momento do parto abarca também uma grande relevância no desenvolvimento do microbioma do recém-nascido, notando-se diferenças entre bebés nascidos por parto natural que acabam por apresentar maiores semelhanças com a microbiota vaginal da mãe, enquanto que bebés nascidos por cesariana apresentam mais semelhanças com a microbiota presente na pele da mãe. Assim, nos primeiros identificam-se bactérias dos géneros *Bifidobacterium*, *Ruminococcus*, *Enterococcus*, *Clostridium* e *Enterobacter*, enquanto que nos segundos predominam bactérias dos géneros *Propionibacterium* e *Staphylococcus*. Estas diferenças deixam de ser significativas aos 6 meses de idade. (Xu e Knight, 2015)

A microbiota intestinal de bebés e lactentes, apesar de ter uma baixa diversidade é muito dinâmica e facilmente afetada pela alimentação, em especial pelo leite materno, verificando-se largas diferenças na microbiota de crianças alimentadas com leite materno quando comparadas com crianças alimentadas com leite de fórmula. Também o tempo de gestação reflete diferenças ao nível da microbiota, uma vez que bebés prematuros apresentam uma maior percentagem de anaeróbios facultativos e de bactérias potencialmente patogénicas

como *C. difficile* ou *K. pneumoniae*, enquanto que bebés nascidos após as 40 semanas têm uma maior diversidade com uma presença mais acentuada dos organismos mais comuns *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e *Streptococcus*. (Castanys-muñoz et al., 2016)

Por volta dos 2 a 3 anos a comunidade microbiana intestinal torna-se mais estável assemelhando-se à de um adulto saudável, mantendo-se estável até uma determinada idade que varia muito de pessoa para pessoa e de acordo com um conjunto de fatores. (Castanys-muñoz et al., 2016)

As alterações derivadas do envelhecimento não são tão notórias como as que ocorrem na fase inicial da vida, sendo que, apesar de uma clara diminuição da diversidade bacteriana, os filos dominantes continuam a ser os *Firmicutes* e os *Bacteroidetes*. A par disso, verifica-se um aumento do número de microrganismos do filo *Proteobacteria*, no qual se incluem muitas espécies potencialmente patogénicas e uma diminuição da expressão do género *Bifidobacterium*, pertencente ao filo *Actinobacteria*, e, responsável por diversos aspetos como a manutenção da barreira intestinal, a melhoria dos processos digestivos, a produção de vitaminas e a estimulação do sistema imunológico (Fig. 2). (Mangiola et al., 2018)

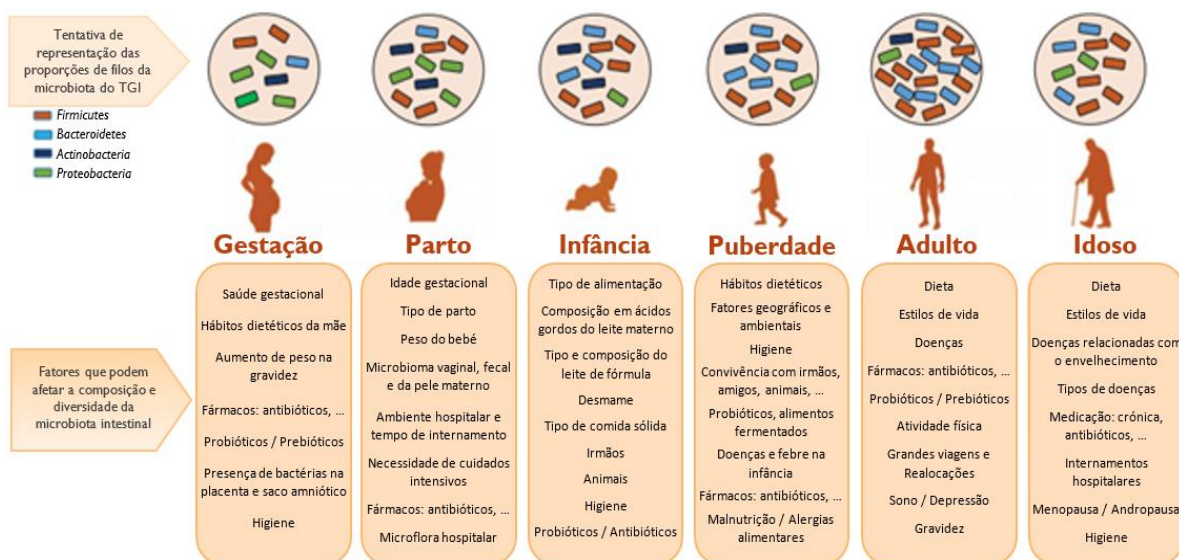


Figura 2 – Alterações da microbiota intestinal humana relacionadas com a idade e os potenciais fatores que podem afetar a sua composição nos diferentes estágios da vida.

[Adaptado de Nagpal et al., 2018]

Fatores Condicionantes da Composição do Microbioma

Para além da evolução normal do microbioma com a idade e com o envelhecimento, existem outros fatores, inerentes ao hospedeiro, aos microrganismos e externos, responsáveis pela variabilidade interindividual existente.

Quanto aos fatores intrínsecos ao hospedeiro temos desde logo, a idade, sexo e etnia e todos aqueles relacionados com a sua fisiologia como o pH intestinal, peristaltismo, secreções digestivas e resposta imunológica à microbiota presente. Já nos fatores inerentes aos microrganismos destacam-se a sua capacidade de escapar aos ataques do sistema imunológico do hospedeiro, a sua capacidade de ligação ao meio onde se encontra, como o lúmen intestinal, e ainda a sua capacidade enzimática de degradação de nutrientes. (Adak e Khan, 2019) (Xu e Knight, 2015)

Relativamente aos fatores ambientais destacam-se, a composição da microbiota materna, a carga microbiana do ambiente circundante, a dieta e hábitos alimentares, estilos de vida, stress e xenobióticos. (Nagpal *et al.*, 2018)

Importância e Funções da Microbiota Intestinal Humana

Depois de caracterizar a microbiota intestinal é fundamental entender quais as suas atividades funcionais e como é que estas afetam a fisiologia e homeostasia do organismo. São várias as funções desempenhadas pela microbiota intestinal, mas destacam-se algumas áreas onde a atuação da microbiota é mais notoriamente benéfica: no metabolismo e digestão de nutrientes, na proteção do hospedeiro e desenvolvimento do sistema imunológico, a nível da estrutura intestinal e a nível neurológico. (Adak e Khan, 2019)

Metabolismo e digestão de nutrientes

A microbiota intestinal é essencial para o processo digestivo do hospedeiro, sendo mesmo capaz de gerar nutrientes a partir de substratos que de outra forma seriam indigestos para o mesmo, como fibras dietéticas de lignina, polissacarídeos não amido e oligossacarídeos, como fruto-oligossacarídeos (FOS) e galacto-oligossacarídeos (GOS), que são resistentes à digestão pelas enzimas digestivas do hospedeiro. (Xu e Knight, 2015) (Shreiner *et al.*, 2016)

Esta capacidade resulta numa maior produção de energia através da digestão de aminoácidos essenciais e não essenciais, hidratos de carbono não digeríveis e lípidos. A par desse maior aporte energético, a fermentação de hidratos de carbono não digeríveis por bactérias anaeróbias no cólon resulta na libertação de ácidos gordos de cadeia curta (SCFA's). Os SCFA's para além de serem uma importante fonte de energia para a mucosa intestinal desempenham um papel crítico ao nível da modulação de respostas imunológicas. A produção de SCFA's e diminuição do pH melhoram a absorção de alguns nutrientes como o cálcio, magnésio e fósforo. (Adak e Khan, 2019)

Alguns membros da microbiota intestinal, nomeadamente muitas estirpes de *Bifidobacterium*, são ainda capazes de produzir vitaminas e fornecê-las ao hospedeiro, em especial a vitamina K e algumas vitaminas do complexo B. (Walsh *et al.*, 2014)

Proteção do hospedeiro e desenvolvimento do sistema imunológico

A microbiota intestinal corresponde à maior área do corpo humano que se encontra em contacto direto com os antigénios que vêm do meio externo e as bactérias constituintes dessa microbiota impedem a colonização do intestino por bactérias patogénicas através de dois mecanismos distintos: quer pela competição para os mesmos locais de ligação e pelos mesmos nutrientes, quer pela produção de vários compostos antimicrobianos, os peptídeos antimicrobianos (AMP) que impedem a proliferação de microrganismos patogénicos e transitórios. (Nagpal *et al.*, 2018) (Adak e Khan, 2019)

A par disso, as células do sistema imunológico na mucosa intestinal possuem uma ampla gama de recetores de reconhecimento de padrões, como os recetores *Toll-like*, e encontram-se em constante comunicação com as restantes células do sistema imunológico por meio dos gânglios linfáticos mesentéricos. (Nagpal *et al.*, 2018) Após o nascimento e aquando do desenvolvimento da microbiota intestinal, há uma exposição gradual do sistema imunológico inato a essa microbiota e, com isso, vai ocorrer a perceção dessa microbiota como comensal e a aquisição de tolerância à mesma. Tal acontece devido a moléculas denominadas padrões moleculares associados a micróbios (MAMP's) existentes nessa microbiota que fazem com que não se desencadeiem respostas pró-inflamatórias contra a mesma. Por outro lado, os padrões moleculares associados a patogénios (PAMP's) são reconhecidos ao nível do epitélio e levam à ativação de mecanismos de defesa do hospedeiro. (Shreiner *et al.*, 2016)

Função estrutural

O intestino é uma das principais interfaces entre o meio externo e substâncias exógenas e o sistema imunológico e são vários os mecanismos de defesa deste local. Desde as células gastrointestinais que se dispõem de forma perfeita através de *tight junctions* que impedem a passagem bidirecional aleatória, à produção de secreções pela mucosa como a mucina, fosfolípidos surfactantes e peptídeos antimicrobianos. Enquanto que alguns patogénios são capazes de enfraquecer estas *tight junctions* e aumentar a permeabilidade intestinal, outros são capazes de promover esta impermeabilidade, por exemplo através do aumento da produção de muco, da aderência de bactérias comensais ao epitélio e impedimento da proliferação de patogénios. (Adak e Khan, 2019)

Função neurológica

O intestino encontra-se conectado com o cérebro através do sistema nervoso entérico (SNE), por aquele que é conhecido como o eixo intestino-cérebro. A microbiota intestinal consegue controlar o SNE através de diversos mecanismos, nomeadamente pela produção, expressão e *turnover* de neurotransmissores e fatores neurotróficos, pela manutenção da integridade da barreira intestinal e *tight junctions*, produção de metabolitos antimicrobianos, modulação dos neurónios sensoriais entéricos e pela regulação imunológica da mucosa. (Adak e Khan, 2019) Por sua vez, o cérebro consegue influenciar a composição e função da microbiota intestinal, tanto indiretamente através de alterações na motilidade e permeabilidade intestinal, como de forma direta através da libertação de moléculas sinalizadoras no lúmen intestinal. (Castanys-muñoz *et al.*, 2016)

O sistema nervoso entérico, constituído, fundamentalmente, por células gliais entéricas e neurónios entéricos, consegue detetar mais de 30 neurotransmissores, como a acetilcolina, dopamina e serotonina. E, de facto, mais de 90% da serotonina e 50% da dopamina têm origem no intestino, sendo maioritariamente produzidos pela microbiota intestinal. Com isso assente e tendo em conta que estes dois neurotransmissores desempenham um papel importantíssimo na transmissão de mensagens ao cérebro no que toca ao controlo de emoções como humor, felicidade e prazer do indivíduo; e que a serotonina tem a capacidade de estimular o sistema nervoso simpático e influenciar a memória e o processo de aprendizagem, torna-se ainda mais evidente a existência de uma relação direta entre a saúde intestinal, em particular ao nível da microbiota intestinal, e as nossas funções neurológicas. (Adak e Khan, 2019)

Papel da Microbiota Intestinal e dos seus Metabolitos na Saúde do Hospedeiro

Diversos estudos realizados em modelos animais estéreis demonstraram que um grande número de células do sistema imunológico se encontra reduzido quando em comparação com animais não estéreis e que quando estes são tratados com bactérias e componentes bacterianos específicos há um aumento e restauro na produção dessas mesmas células imunológicas. (Bouskra *et al.*, 2008) (Mazmanian *et al.*, 2005)

Ivanov *et al.*, (2008), demonstraram também que algumas bactérias específicas pertencentes aos géneros *Bacteroides* e *Lactobacillus* participam na regulação de células Th17 e células dendríticas, respetivamente.

Curiosamente, também foi descoberto que os fenótipos da maioria das células imunológicas associadas à mucosa intestinal são diferentes das células imunológicas sistêmicas mesmo quando se comparam células da mesma linhagem. Tal pode sugerir que se trata de um mecanismo fisiológico natural necessário para apoiar um ambiente intestinal mais tolerável à presença da microbiota que habita no meio. (Nagpal *et al.*, 2018)

Para além da influência da microbiota intestinal a diversos níveis (metabólico, estrutural, imunológico e neurológico), esta tem também a capacidade de alterar a saúde humana através da produção e modificação de diversos metabolitos. Dentro desses metabolitos destacam-se os ácidos gordos de cadeia curta, o triptofano, algumas vitaminas, a colina e diversos neurotransmissores, como a serotonina. (Castanys-muñoz *et al.*, 2016)

A colina é um nutriente essencial presente em muitas plantas e animais e desempenha diversos papéis fundamentais, nomeadamente, na manutenção da integridade estrutural das membranas celulares e na síntese de acetilcolina, um dos neurotransmissores mais importantes ao nível do sistema nervoso central e periférico. No entanto, algumas espécies de bactérias presentes na microbiota intestinal de indivíduos com um alto consumo de alimentos ricos em colina, metabolizam a colina em trimetilamina que é absorvida no intestino. Derivado disso, ocorre, a nível hepático, a formação de N-óxido de trimetilamina (TMAO), que resulta numa sinalização hepática exacerbada de insulina com conseqüente tolerância à glicose e promoção de inflamação do tecido adiposo, aterosclerose e doenças cardiovasculares. Esta descoberta, permitiu o surgimento de um novo marcador metabólico de doenças cardiovasculares, o TMAO, conseqüência da conversão de colina dietética por bactérias intestinais. (Adak e Khan, 2019)

Os ácidos gordos de cadeia curta, produzidos por bactérias anaeróbias dos géneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium* e *Ruminococcus*, têm um impacto positivo em vários aspetos significativos da saúde do hospedeiro, nomeadamente, na manutenção de um pH luminal baixo, na promoção do crescimento da população bacteriana benéfica, na manutenção da integridade da barreira intestinal e na regulação da produção de muco. De entre esses SCFA's, destacam-se o butirato que parece ter um papel protetor no desenvolvimento do cancro colorretal, por inibição da histona deacetilase que de outra forma estimularia a proliferação de células cancerígenas; o propionato que tem um papel importante contribuindo para a gliconeogénese e regulando a síntese de colesterol; e o acetato que também atua como um substrato para a lipogénese ao nível do fígado. (Nagpal *et al.*, 2018) (Shreiner *et al.*, 2016) (Castanys-muñoz *et al.*, 2016)

Nagendra *et al.*, (2015), mostraram a importância do butirato na regulação das respostas imunológicas e na tumorigénese ao nível do intestino. No seu estudo, descreveram que o butirato consegue inibir a tumorigénese uma vez que camundongos deficientes em Grp109a, um recetor para o butirato, desenvolveram tumores induzidos tanto por estímulos inflamatórios como por mutação do gene supressor de tumor APC, enquanto que a sinalização através do recetor Grp109a inibiu a tumorigénese induzida por esses dois estímulos.

O triptofano é um aminoácido essencial fundamental para o desenvolvimento do sistema nervoso central numa fase inicial da vida, e constitui um precursor da serotonina, um neurotransmissor que tal como já explicitado anteriormente, regula as funções gastrointestinais, humor, apetite, sono e ansiedade. Devido à capacidade de algumas bactérias de produzir metabolitos neuroativos como a serotonina, a modulação desses neurotransmissores é um dos mecanismos de ação por meio do qual a microbiota poderá exercer efeitos no desenvolvimento e funcionamento do cérebro. Outro mecanismo prende-se com a capacidade da microbiota intestinal de estimular a libertação de serotonina pelas células intestinais enterocromafins, influenciando assim o eixo intestino-cérebro. (Castanys-muñoz *et al.*, 2016)

Envelhecimento

Ao longo do último século verificou-se um aumento da esperança média de vida da população mundial o que constitui um maior grupo de risco para o desenvolvimento e aumento da prevalência de doenças crónicas associadas a esse aumento do tempo de vida, ou seja, ao envelhecimento. O envelhecimento é um processo extremamente complexo que afeta um vasto leque de funções fisiológicas, genómicas, metabólicas e imunológicas. Embora seja um processo natural e comum a todos os organismos está sujeito a uma elevada variabilidade interindividual. (Lebrasseur *et al.*, 2015)

Posto isto há um grande interesse socioeconómico para se tentar perceber o processo de envelhecimento e de que forma é que se pode diminuir a incidência de doenças crónicas a ele associadas. Atualmente são vários os mecanismos que conseguem explicar o estado de envelhecimento e a sua relação com a incidência de doenças crónicas. Entre eles destacam-se o estado inflamatório de baixo grau, o processo de imunosenescência, a alteração dos padrões de metilação, o encurtamento dos telómeros e o aumento do *stress* oxidativo. (Lebrasseur *et al.*, 2015) (Arsenis *et al.*, 2017)

Inflamação, Imunosenescência e Síndrome de Fragilidade

O estado inflamatório é possivelmente o maior marcador de doenças crónicas e fragilidade associadas ao aumento da idade. A síndrome de fragilidade, tal como o nome indica define-se por um aumento global da vulnerabilidade que afeta um determinado grupo de adultos que ficam em risco de desenvolver declínio funcional, agravamento de doenças crónicas, incapacidade e mortalidade, sendo este declínio mais visível ao nível do sistema músculo-esquelético e nervoso. (Lebrasseur *et al.*, 2015)

O declínio progressivo e gradual do sistema imunológico com o envelhecimento é conhecido por imunosenescência e afeta tanto o sistema imunológico adquirido como o inato. Com o envelhecimento verifica-se uma diminuição da produção de linfócitos T e B com consequente aumento da suscetibilidade a ataques de patógenos e desenvolvimento de infeções. Esta maior sensibilidade resulta num aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias como a interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a proteína C reativa (PCR). Estes e outros fatores já se encontram atualmente bem reconhecidos como fatores patogénicos no desenvolvimento de diversas doenças bem como no desenvolvimento da síndrome da fragilidade. (Lebrasseur *et al.*, 2015)

Causas do *Inflammaging*

O desenvolvimento de um estado inflamatório crônico sistêmico de baixo grau devido ao envelhecimento tem o nome de *inflammaging* e é caracterizado por um aumento dos marcadores de inflamação. São várias as causas apontadas para o desenvolvimento deste quadro, entre elas, o aumento do tecido adiposo, aumento de células senescentes, estimulação de alguns genes pró-inflamatórios, aumento do *stress* oxidativo, alterações na metilação do ADN e alterações na microbiota intestinal. (Nagpal *et al.*, 2018)

Tecido Adiposo

Com o envelhecimento, o tecido adiposo sofre alterações, havendo um aumento progressivo de massa gorda e a sua redistribuição, com um aumento da gordura visceral e uma diminuição da gordura subcutânea. Este incremento leva à secreção de adipocitocinas, nomeadamente as citocinas pro-inflamatórias IL-6 e TNF- α e a um aumento da produção de leptina pelo próprio tecido adiposo que, por sua vez, contribui para o aumento da inflamação e estimula os monócitos a produzir mais IL-6, TNF- α e IL-12, contribuindo para o aumento da inflamação e do *stress* oxidativo. (Panickar e Jewell, 2015)

Senescência

O processo de senescência diz respeito à paragem de crescimento celular e pode ser induzido por qualquer agente causador de *stress* durante a mitose, desde encurtamento dos telómeros, lesões no ADN, espécies reativas de oxigénio, entre outros. Este é um processo dependente da ativação de vias supressoras tumorais que impede o crescimento de células malignas, constituindo uma grande vantagem para o organismo. No entanto, com o envelhecimento, há uma acumulação de células senescentes que vão afetar a estrutura e função de vários tecidos levando ao desenvolvimento de patologias. (Lebrasseur *et al.*, 2015)

Quando o processo de senescência celular ocorre, por exemplo, ao nível das células da microglia (células do sistema fagocítico mononuclear residentes a nível cerebral), conduz a um aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias pelas células da microglia senescentes, com consequente neuroinflamação que, por sua vez, vai promover a deposição do peptídeo β -amilóide, que está envolvido no desenvolvimento da doença de Alzheimer. (Wu *et al.*, 2016)

O processo de senescência constitui, assim, uma vantagem incontestável nos organismos jovens, mas uma franca ameaça em organismos envelhecidos.

Espécies reativas de oxigênio

À semelhança do processo de senescência, também as espécies reativas de oxigênio são importantes para a sobrevivência da célula, intervindo em vários processos celulares. No entanto, quando presentes em grandes quantidades como acontece em situações de *stress* oxidativo inerentes ao processo de envelhecimento, vão conduzir à ativação da via do fator nuclear kappa B (NF-kB) levando ao aumento de citocinas pro-inflamatórias. E, se por um lado, o aumento destas espécies reativas de oxigênio vai agravar o processo de senescência, por outro, com o aumento das citocinas pro-inflamatórias vai haver um aumento da produção dessas mesmas espécies reativas devido à ativação de macrófagos e inibição de antioxidantes como a superóxido dismutase. (Arsenis *et al.*, 2017)

Encurtamento dos telómeros

Os telómeros localizam-se na porção terminal dos cromossomas protegendo-os de danos durante a replicação do ADN. O encurtamento dos telómeros é um processo natural que ocorre após cada divisão celular, e como tal é normal que ocorra com o processo de envelhecimento e que contribua para a senescência celular. (Arsenis *et al.*, 2017)

Müezzinler *et al.*, (2013), mostraram que o encurtamento dos telómeros pode funcionar como um bom indicador do envelhecimento celular, uma vez que nos seus estudos conseguiram apontar uma relação inversa entre a idade dos indivíduos e o comprimento dos telómeros. Manchia *et al.*, (2020) vieram reforçar essa hipótese uma vez que mostraram que para além dos telómeros diminuírem a cada divisão celular, a taxa de encurtamento é aumentada pela carga alostática e inflamação inerentes ao processo de envelhecimento, estabelecendo assim uma relação mais direta entre o encurtamento dos telómeros e o processo de envelhecimento biológico.

Evidências recentes sustentam que o comprimento dos telómeros de leucócitos e células do músculo esquelético pode estar positivamente associado a uma vida saudável e que, de forma inversa telómeros mais curtos podem ser associados ao desenvolvimento de patologias relacionadas com a idade, incluindo cancro, doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes, dor crónica e *stress*. (Arsenis *et al.*, 2017)

Maeda *et al.*, (2021), tentaram perceber qual a relação entre a microbiota fecal e as alterações dos telómeros em pacientes com doenças crónicas. Os investigadores propuseram que, à semelhança do encurtamento dos telómeros, o estado de metilação do ADN na região do ADN genómico adjacente ao telómero, ou seja, o estado de metilação subtelomérica (mTL), parece ser um indicador da idade genómica. No entanto, enquanto que o comprimento

dos telómeros é indicador do grau de envelhecimento, o estado de metilação subtelomérica do ADN parece ser um indicador da velocidade desse envelhecimento, onde uma maior desmetilação dos subtelómeros, ou seja, um menor valor de mTL indica uma maior velocidade do processo de envelhecimento. Os parâmetros utilizados no estudo foram o comprimento dos telómeros (TL), o comprimento das secções metiladas dos telómeros (mTL) e a diferença entre eles (mTL – TL). Primeiramente, Maeda e colaboradores, (2021), observaram uma correlação negativa entre a idade e o TL e entre a idade e o mTL, tanto em mulheres como em homens, ou seja, verificaram que com o aumento da idade há uma diminuição do comprimento dos telómeros e uma diminuição da metilação subtelomérica. Para além disso, apuraram que uma diminuição do comprimento das secções metiladas dos subtelómeros está relacionado com o aumento de algumas espécies bacterianas não patogénicas, nomeadamente de *Streptococcus spp.* em homens e mulheres e de *E. coli* em mulheres. A alteração da microbiota intestinal com a diminuição do mTL demonstra que as alterações da microbiota e da imunidade intestinal se alteram não só devido a um envelhecimento biológico, mas também devido à velocidade desse envelhecimento. Deste modo, pode concluir-se que desvios ao nível da microbiota fecal, nomeadamente com a predominância de *Streptococcus* em homens e mulheres e *E. coli* em mulheres, podem ser um sinal de deteção precoce de uma aceleração do processo de envelhecimento celular.

Tendo em conta que o encurtamento dos telómeros é um fator de risco para o desenvolvimento de infeções e de determinadas doenças e para a diminuição do tempo de vida, e que são várias as doenças crónicas associadas ao envelhecimento que, por sua vez, aceleram o encurtamento dos telómeros, cria-se um ciclo vicioso que apenas pode ser quebrado através da deteção precoce dos sinais indicadores dessa alteração de tamanho dos telómeros. Como tal, os resultados dos estudos de Maeda e colaboradores, (2021), podem ser usados para detetar as situações clínicas em que há propensão para o desenvolvimento de um envelhecimento celular acelerado e tentar evitar essas situações. Assim sendo, abre-se a porta para a instituição da análise da microbiota fecal como prática clínica de rastreio e prevenção para pessoas, com historial familiar de patologias relacionadas com a idade, como cancro, doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes, dor crónica e stress que já se encontram atualmente associadas com um encurtamento dos telómeros e com um envelhecimento celular acelerado. (Arsenis *et al.*, 2017)

Microbiota Intestinal

Com o envelhecimento ocorre uma diminuição da capacidade de mastigação e de produção de saliva e uma diminuição da motilidade intestinal, o que, inevitavelmente, vai

resultar numa diminuição do aporte e absorção de nutrientes que suportam a microbiota intestinal. Por outro lado, fatores intrínsecos ao envelhecimento como o aumento da fragilidade, tratamentos com antibióticos e anti-inflamatórios não esteroides, internamentos hospitalares, entre outros, levam também a alterações da microbiota intestinal. (Candela *et al.*, 2014)

Os fenômenos de *inflammaging* e imunosenescência são dos principais responsáveis pelas alterações da microbiota intestinal decorrentes do envelhecimento, e, ao mesmo tempo, o contrário também se verifica, havendo mesmo estudos laboratoriais que sugerem que a microbiota intestinal poderá ter um papel na indução e manutenção do processo inflamatório. (Ostan *et al.*, 2015)

Num desses estudos, os autores analisaram o efeito da transferência da microbiota intestinal de camundongos idosos para camundongos jovens estéreis e encontraram uma ligação importante entre a constituição da microbiota e o processo de *inflammaging*. Observaram que níveis baixos de *Akkermansia* e o aumento de *Proteobacteria* característicos da microbiota dos camundongos idosos estava associado com a ativação de uma resposta inflamatória local e sistêmica. Para além disso, verificaram ainda a expressão do marcador de senescência p16, um aumento dos níveis de LPS, um lipopolissacarídeo presente na parede celular de bactérias de gram-negativo e a ativação do fator nuclear kappa B (NF-κB), permitindo inferir que a microbiota intestinal dos camundongos idosos é responsável por promover uma resposta inflamatória a nível intestinal, promovendo e mantendo o processo de *inflammaging*. (Fransen *et al.*, 2017)

Envelhecimento e Alterações da Microbiota: Causa ou Consequência?

Embora a microbiota intestinal não envelheça com a idade, nota-se um aumento da incidência de comorbilidades associadas com a microbiota intestinal à medida que o hospedeiro envelhece. Apesar disso, não é ainda claro se essas alterações da microbiota são a causa ou a consequência do tal envelhecimento do hospedeiro. No entanto, é certo que a homeostasia da microbiota intestinal é fundamental para um envelhecimento saudável e, como tal, a restauração dessa homeostasia parece fornecer um bom alicerce para o prolongamento da longevidade humana. (Nagpal *et al.*, 2018)

A composição da microbiota intestinal nos idosos varia muito com os fatores externos já expostos anteriormente, como os estilos de vida, o sedentarismo, patologias e medicação associada, hospitalizações, ambiente geográfico, entre outros. Também a dieta e a perda de

sabor, cheiro e capacidade de mastigação decorrentes da idade levam muitas vezes a que se adotem dietas mais ricas em açúcares e gorduras e com uma menor percentagem de fibras, plantas e proteínas, encontrando-se já documentado que existe uma relação entre a composição da microbiota e uma dieta com pouca diversidade de alimentos saudáveis. (Claesson *et al.*, 2012)

Apesar do papel de todos esses fatores, as modificações sofridas ao nível do sistema imunológico do hospedeiro, derivadas do processo de imunosenescência, parecem ser uma das principais causas das alterações da microbiota nos idosos, sendo notório que, quando comparada com a microbiota de um adulto saudável, há uma diminuição dos comensais *Bacteroides* (filo *Bacteroidetes*), *Bifidobacterium* (filo *Actinobacterium*) e *Lactobacilli* (filo *Firmicutes*) e um aumento de oportunistas como *Enterobacteria* (filo *Proteobacteria*), *C. perfringens* e *C. difficile* (filo *Firmicutes*). Por sua vez, esse aumento de espécies oportunistas estimula o desenvolvimento de quadros de inflamação intestinal que, principalmente no caso dos idosos, muitas vezes já se encontravam presentes. (Nagpal *et al.*, 2018) (Mangiola *et al.*, 2018)

Visto que, alterações da diversidade e funcionalidade da microbiota, nomeadamente a redução da capacidade metabólica com níveis mais baixos de ácidos gordos de cadeia curta foram já associadas a várias condições inflamatórias como trânsito intestinal irregular, redução do apetite, fragilidade, perda de peso, declínio cognitivo, hipertensão, deficiência de vitamina D, diabetes, artrite, sarcopenia entre muitas outras, torna-se importante olhar para a biologia humana através da microbiota intestinal e tentar reconhecer padrões de desvios nessa microbiota que possam ser indicadores do processo de envelhecimento. (Nagpal *et al.*, 2018)

Dentro das alterações que já se encontram estabelecidas, uma das principais é a razão entre os filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes* que varia bastante ao longo da vida e com as condições fisiopatológicas e, por isso, é considerado um bom marcador preditivo de estados de doença e saúde. Nos idosos, a razão *Firmicutes* / *Bacteroidetes* encontra-se aumentada, com um número de microrganismos do filo *Firmicutes* superior ao número de microrganismos do filo *Bacteroidetes*. (Adak e Khan, 2019)

Outra grande diferença é que os idosos têm significativamente menores quantidades de butiril-CoA : acetato-CoA transferase em comparação com indivíduos jovens. A butiril-CoA : acetato-CoA transferase, que produz butirato e acetil-CoA a partir de butiril-CoA e de acetato, é a enzima responsável pela etapa final da produção de butirato em bactérias. Esta redução está associada a um menor conteúdo em espécies produtoras de butirato como *Eubacterium rectale*, *Escherichia coli* e *Faecalibacterium prausnitzii* nos idosos. (Rajoka *et al.*, 2018) (Shinohara *et al.*, 2019) (Mangiola *et al.*, 2018) No cólon, o butirato estimula a secreção de

mucina, uma proteína constituinte da camada de muco que atua como uma barreira física que separa os enterócitos da microbiota, pelo que uma redução deste ácido gordo parece facilitar a entrada de patobiontes na mucosa intestinal. Deste modo, a redução de SCFA's devido a alterações da microbiota intestinal decorrentes da idade comprometem a integridade da barreira epitelial, permitindo a passagem tanto de bactérias como de produtos do seu metabolismo, o que vai inevitavelmente perturbar o sistema imunológico do hospedeiro e agravar o processo inflamatório associado ao envelhecimento. Um epitélio intestinal enfraquecido fica especialmente sensível ao ataque por parte de bactérias da família *Enterobacteriaceae* e outras bactérias gram-negativas que irão provocar uma libertação extrema de endotoxinas e, conseqüentemente, uma resposta inflamatória exacerbada. (Rajoka *et al.*, 2018)

Por outro lado, a microbiota tem influência não só a nível intestinal, como também a nível imunológico sistémico, uma vez que alterações relacionadas com a idade, como por exemplo, níveis aumentados de TNF- α , IL-6 e IL-8, parecem estar relacionadas com a composição da microbiota. (Nagpal *et al.*, 2018)

Apesar de ainda não se ter conseguido decifrar se são as alterações na microbiota relacionadas com a idade que causam a senescência imunológica ou se é o contrário, é já possível especular que o declínio da integridade do epitélio intestinal que ocorre com o aumento da idade vai inevitavelmente levar a uma diminuição da impermeabilidade e a uma maior entrada de bactérias intestinais na corrente sanguínea. Ora, é lógico que com isso se vai despoletar uma resposta inflamatória não só local, mas também sistémica, com um aumento da carga antigénica muitas vezes presente em doenças bastante comuns na terceira idade, como doenças autoimunes, hepáticas, cardiovasculares e neurológicas. (Nagpal *et al.*, 2018)

Para além disso, uma ideia importante a reter é que as alterações da microbiota intestinal associadas ao envelhecimento podem não ser necessariamente despoletadas pela idade, mas sim pela deterioração no estado de saúde muitas vezes associado a uma má nutrição e à necessidade de toma de medicamentos como anti-inflamatórios não esteróides e antibióticos. Por essa razão vários estudos especulam que a perda de diversidade microbiana é devida à fragilidade decorrente da idade e à velocidade com que se instala essa fragilidade, e a tudo o que esta acarreta, e não propriamente à idade cronológica. (Nagpal *et al.*, 2018)

Doenças Geriátricas Relacionadas com a Microbiota Intestinal

O conceito de doenças geriátricas é um conceito amplo que se refere a distúrbios de saúde multifatoriais que ocorrem quando há uma acumulação de danos em vários sistemas que tornam uma pessoa mais suscetível ao desenvolvimento dessas doenças. A Doença de Parkinson, Imunosenesescência, Artrite Reumatoide e Síndrome Metabólica são alguns exemplos de doenças geriátricas. Atualmente, já diversos estudos demonstraram que o desenvolvimento dessas doenças está altamente relacionado com o estado e composição da microbiota intestinal. (Rajoka *et al.*, 2018)

Analisando, por exemplo, o caso da Artrite Reumatoide. Esta é uma doença inflamatória de longa duração, cuja progressão está relacionada com a desregulação da função imunológica normal, nomeadamente através do aumento de linfócitos T pro-inflamatórios. (Rajoka *et al.*, 2018) A incidência de bactérias filamentosas parece regular positivamente a expressão da interleucina 17 pelas células Th17, resultando numa desregulação das Células T CD4⁺ e um aumento do risco de doença inflamatória que por sua vez está intimamente ligado à patogénese da Artrite Reumatoide. (Zhao *et al.*, 2017) Por outro lado, algumas das alterações da microbiota intestinal que se encontram bem documentadas são uma redução das espécies de *Bacteroides fragilis*, *Clostridium coccooides*, *Eubacterium rectale* e uma sobrerrepresentação de espécies do género *Prevotella*, mais especificamente *Prevotella copri*. Já as espécies do género *Lactobacillus* parecem aumentar significativamente na fase inicial da Artrite Reumatóide. (Nakayama *et al.*, 2015)

Outro exemplo é a Doença Cardiovascular (DCV), decorrente da Síndrome Metabólica, em que estudos de amostras fecais de doentes com DCV apresentam um número reduzido de *Bacteroides* e um número aumentado de *Lactobacilli* e *Clostridium* em comparação com amostras fecais de indivíduos saudáveis. (Jie *et al.*, 2017) Outro estudo envolvendo 112 pacientes mostrou que o aumento da diversidade microbiana está associado a uma diminuição do risco de DCV, e, mais importante ainda, que o perfil da microbiota intestinal está a emergir como um potencial marcador de diagnóstico para a DCV. (Rajoka *et al.*, 2018)

Manipulação da Microbiota Intestinal como Estratégia para o Controle de Doenças Geriátricas

Dado o número de estudos que demonstram uma correlação entre a composição da microbiota intestinal e a capacidade cognitiva, fragilidade e comorbilidades associadas ao envelhecimento, a modulação da microbiota surge como uma nova abordagem para permitir um envelhecimento o mais fisiológico e menos patológico possível e, quem sabe, como forma de travar os processos degenerativos associados ao aumento de idade. (Mangiola *et al.*, 2018)

A microbiota intestinal está, assim, a tornar-se uma das áreas de investigação mais vigorosas no que toca à procura de abordagens seguras e eficazes para melhorar e restaurar a eubiose intestinal e, assim, reverter ou mesmo curar doenças tanto gastrointestinais como extraintestinais. A modulação da microbiota pode passar por diversas estratégias que têm como objetivo final a obtenção de um microbioma melhorado com melhores implicações para a saúde humana. Entre essas estratégias destacam-se as intervenções na dieta, o uso de probióticos, prebióticos e simbióticos, a nutrição entérica e o transplante da microbiota fecal. (Rajoka *et al.*, 2018)

Intervenções na dieta

Dado que uma grande parte das alterações da microbiota intestinal podem ser atribuídas aos hábitos alimentares e que são várias as evidências que demonstram que os nutrientes e outros componentes dietéticos conseguem influenciar os processos neuroinflamatórios que levam à neurodegeneração em animais, é plausível que, dietas ricas em componentes antiinflamatórios atenuem a neuroinflamação, tanto através de vias neurológicas como através da microbiota intestinal. Os dados preliminares, dos poucos estudos existentes, parecem indicar uma associação positiva entre a dieta mediterrânica e o aumento do número de espécies benéficas do filo *Bacteroidetes* e dos seus metabolitos com efeitos antiinflamatórios. No entanto, para além dos estudos em humanos que avaliam os padrões alimentares e a microbiota intestinal serem poucos, os mecanismos inflamatórios que ligam a dieta à função cognitiva continuam ainda pouco definidos. (McGrattan *et al.*, 2019)

Apesar disso, alterações da dieta, em particular a restrição calórica já se encontram atualmente associadas à prevenção e cura da obesidade. Enquanto que a razão *Firmicutes* / *Bacteroidetes* se encontra aumentada em indivíduos obesos, a perda de peso por restrição calórica traduz-se numa diminuição dessa razão e, conseqüentemente, num aumento de

espécies benéficas e positivamente ligadas a um bom envelhecimento e a uma diminuição das espécies prejudiciais. (Mathur e Barlow, 2015)

Assim sendo, são necessárias mais investigações nesta área para suportar esta informação, no entanto, é inegável o potencial terapêutico da modulação da microbiota intestinal através de intervenções dietéticas na redução dos quadros de inflamação inerentes ao processo de envelhecimento.

Probióticos, Prebióticos e Simbióticos

Quanto aos probióticos, são definidos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como microrganismos vivos que quando administrados nas quantidades adequadas conferem benefícios para a saúde do hospedeiro. Os prebióticos são ingredientes que, não podendo ser digeridos, permitem alterações específicas na composição e/ou atividade da microbiota intestinal, conferindo assim benefícios para a saúde do hospedeiro. Já os simbióticos são uma associação de probióticos e prebióticos. Destes três, os probióticos parecem apresentar o maior potencial no que toca à modulação da microbiota intestinal, em particular no tratamento de doenças hepáticas. (Guarner *et al.*, 2017) (Milosevic *et al.*, 2019)

São vários os mecanismos de ação dos probióticos responsáveis por esses benefícios, destacando-se o aumento da população de bactérias anaeróbias benéficas e diminuição do número de microrganismos potencialmente patogénicos e a estimulação do sistema imunológico do hospedeiro através de interações com microrganismos tanto comensais como potencialmente patogénicos com produção de moléculas benéficas como os SCFA's. Como consequência disso, verifica-se uma melhoria geral do ambiente intestinal, um fortalecimento da barreira intestinal e uma regulação negativa da inflamação e positiva da resposta imunológica do hospedeiro. (Guarner *et al.*, 2017)

Os probióticos têm um papel atenuante na maioria das alterações da microbiota induzidas pela idade e, como tal, têm uma boa taxa de sucesso na população idosa. No entanto, apesar de serem seguros e eficazes em indivíduos saudáveis, dados recentes parecem demonstrar que indivíduos idosos com danos severos na mucosa intestinal podem experimentar o desenvolvimento de uma infeção não desejada. (Rajoka *et al.*, 2018)

Apesar disso, os probióticos continuam a ser uma boa abordagem terapêutica para diversas condições fisiopatológicas sendo os seus benefícios suportados por diversos estudos clínicos. Os probióticos mais utilizados e estudados são pertencentes às espécies *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. (Guarner *et al.*, 2017) No entanto, a maioria desses estudos ainda se mostram muito inconclusivos não sendo possível tirar conclusões de quais as espécies,

duração de tratamento e forma de administração que promovem os melhores resultados. (Milosevic *et al.*, 2019)

De facto, Jeong *et al.*, (2016), mostraram que a modulação da microbiota intestinal tem um forte impacto no processo inflamatório do hospedeiro. No seu estudo pretenderam avaliar a possibilidade de melhoria da colite e do comprometimento da memória associados ao processo de envelhecimento. Para isso, recorreram à administração oral de *Lactobacillus brevis* OW38 a camundongos idosos e verificaram um fortalecimento das junções da barreira intestinal, uma inibição da produção de LPS e da expressão de marcadores inflamatórios e de senescência, como, TNF, COX-2, p16, p53 e SAMHD1 (sterile α -motif domain– and HD domain–containing protein 1) no cólon, inibindo, assim, a ativação da via do NF-kB. Desta forma, especula-se que a administração oral deste probiótico consegue melhorar a colite e o comprometimento da memória, associados ao envelhecimento, através da inibição de produção de LPS, da expressão de p16 e da ativação de NF-kB, no entanto, são necessários mais estudos, nomeadamente em humanos, de forma a tirar conclusões mais definitivas.

A par disso, Jeong e colaboradores, (2016), analisaram também as diferenças ao nível da composição da microbiota entre os dois grupos de controlo – de camundongos jovens e de camundongos idosos –, e o grupo de camundongos idosos tratados com *Lactobacillus brevis* OW83, tendo verificado que, em comparação com o grupo de controlo de camundongos jovens, o grupo controlo de camundongos idosos possuía uma maior expressão do filo *Firmicutes* e do filo *Proteobacteria*, e uma diminuição da percentagem relativa de microrganismos do filo *Bacteroidetes*, ou seja, a razão *Firmicutes* / *Bacteroidetes* encontrava-se aumentada nos camundongos idosos. Posteriormente, e após a administração oral do probiótico *Lactobacillus brevis* OW38, verificaram que os camundongos tratados com esse probiótico apresentavam uma diminuição da expressão relativa dos filios *Firmicutes* e *Proteobacteria* e um aumento dos *Bacteroidetes*, o que se traduziu numa diminuição da razão *Firmicutes* / *Bacteroidetes* que se encontrava aumentada no grupo controlo dos camundongos idosos.

Transplante da microbiota fecal

São vários os estudos onde já se conseguem estabelecer relações muito claras da influência da manipulação da microbiota intestinal na indução de estados fisiológicos e comportamentais indicadores de doença. Por exemplo, Sharon *et al.*, (2020), transplantaram a microbiota intestinal humana de voluntários com transtornos do espectro do autismo em camundongos estéreis e verificaram que a colonização intestinal com essa microbiota era

suficiente para induzir alterações comportamentais indicadoras de transtornos do espectro do autismo.

Como tal, tem se procurado demonstrar que a relação inversa também se verifica e que o transplante da microbiota fecal representa, efetivamente, uma estratégia de modulação da microbiota com potencial terapêutico na recuperação da homeostasia do hospedeiro.

Atualmente as evidências experimentais sobre a eficácia do transplante da microbiota fecal concentram-se no tratamento de infecções por *Clostridium difficile*, deixando ainda muito por explorar sobre os restantes distúrbios gastrointestinais e não gastrointestinais. No entanto, existem já evidências que o transplante fecal de camundongos selvagens para camundongos laboratoriais e estéreis melhora a aptidão e resistência destes últimos contra a indução de tumorigênese colorretal. Desta forma, a introdução de uma microbiota saudável proveniente dos camundongos selvagens é sugestiva da sua capacidade de alterar a composição da microbiota e exercer um efeito protetor contra o cancro colorretal. (Fong *et al.*, 2020)

Apesar dos resultados promissores ao nível da modulação da microbiota na prevenção das doenças geriátricas, nomeadamente neurodegenerativas e metabólicas, existem ainda inúmeros problemas que têm de ser ultrapassados antes de se poder usar o transplante fecal como prática clínica. A inexistência de práticas clínicas standardizadas, taxas de segurança e sucesso não definidas, possível transmissão de patogénios, existência de pouca variabilidade de amostras frescas de dadores e a própria preparação e administração, são alguns dos problemas a resolver. A par das reservas existentes começam também a surgir algumas soluções possíveis, como o uso de amostras congeladas em vez de frescas e o uso de substitutos de amostras de fezes, por exemplo, através do cultivo de comunidades bacterianas de um dado dador. (Rajoka *et al.*, 2018)

CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

A microbiota intestinal começa a desenvolver-se ainda antes do nascimento, estabelece-se por volta dos três anos e continua a desenvolver-se até à idade adulta, sofrendo depois alterações decorrentes da idade. À data da realização deste trabalho, encontra-se já bem estabelecida uma clara relação entre a microbiota intestinal e a ocorrência e desenvolvimento de doenças ou condições patológicas relacionadas com o envelhecimento, como a Doença de Parkinson, Artrite Reumatoide, Síndrome Metabólica, Imunosenesescência, Infecção por *Clostridium difficile* e Perda de densidade óssea, bem como algumas abordagens terapêuticas para essas mesmas doenças e patologias. Como tal, nota-se um interesse e esforço crescentes no sentido de prevenir essas e outras doenças através da modulação da microbiota intestinal pelas mais diversas estratégias.

Tendo em conta o ritmo notável a que se realizam novas pesquisas e investigações na área da microbiota intestinal, penso que é seguro afirmar que brevemente iremos conseguir responder às questões sobre “qual” a microbiota intestinal que está a fazer “o quê”, “quando” e “como”. Posteriormente a isso surge um mundo de possibilidades, desde a previsão do risco de desenvolver disbiose intestinal e as respetivas doenças associadas a esse estado, as formas de a prevenir e todas as terapêuticas com base na modulação da microbiota que permitirão um melhor envelhecimento tendo como base uma microbiota saudável e resiliente.

No entanto, e embora estejamos num bom caminho, existem ainda várias questões a necessitar de respostas concretas, sendo que fica por apurar se as alterações da microbiota intestinal são a causa ou a consequência do envelhecimento ou se sendo ambos os casos, quais as situações em que é uma causa e quais as situações em que se torna consequência. A par disso, fica também a questão se será possível, não só prevenir o aparecimento de doenças associadas à idade avançada, mas também retardar o próprio envelhecimento através da manipulação do microbioma e, sendo isso possível, qual a melhor altura para o fazer.

Apesar de todas estas incertezas, uma coisa é certa, a importância da microbiota intestinal na saúde e no envelhecimento é cada vez mais reconhecida e como tal abre-se uma porta para as inúmeras intervenções nutricionais e terapias personalizadas que tenham como alvo essa mesma microbiota, tais como os probióticos e prebióticos, nutracêuticos, alimentos funcionais e transplante da microbiota fecal.

BIBLIOGRAFIA

- ADAK, A.; KHAN, M. R. - An insight into gut microbiota and its functionalities. **Cellular and Molecular Life Sciences**. 76:3 (2019) 473–493. ISSN 14209071.
- ARSENIS, N. C.; TONGJIAN, Y.; OGAWA, E. F.; TINSLEY, G. M.; ZUO, L. - Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action. **Oncotarget**. 8:27 (2017) 45008–45019. ISSN 19492553.
- BOUSKRA, D.; BRÉZILLON, C.; BÉRARD, M.; WERTS, C.; VARONA, R.; BONECA, I. G.; EBERL, G. - Lymphoid tissue genesis induced by commensals through NOD1 regulates intestinal homeostasis. **Nature**. 456:7221 (2008) 507–510. ISSN 14764687.
- CANDELA, M.; BIAGI, E.; BRIGIDI, P.; O'TOOLE, P. W.; DE VOS, W. M. - Maintenance of a healthy trajectory of the intestinal microbiome during aging: A dietary approach. **Elsevier**. 136–137 (2014) 70–75. ISSN 18726216.
- CANI, P. D. - Human gut microbiome: Hopes, threats and promises. **Gut**. 67:9 (2018) 1716–1725. ISSN 14683288.
- CASTANYS-MUÑOZ, E.; MARTIN, M. J.; VAZQUEZ, E. - Building a Beneficial Microbiome from Birth. **Advances in Nutrition**. 7:2 (2016) 323–330.
- CLAESSON, M. J.; JEFFERY, I. B.; CONDE, S.; POWER, S. E.; O'CONNOR, E. M.; CUSACK, S.; HARRIS, H. M.; COAKLEY, M.; LAKSHMINARAYANAN, B.; O'SULLIVAN, O.; FITZGERALD, G. F.; DEANE, J.; O'CONNOR, M.; HARNEDY, N.; O'CONNOR, K.; O'MAHONY, D.; VAN SINDEREN, D.; WALLACE, M.; BRENNAN, L.; STANTON, C.; MARCHESI, J. R.; FITZGERALD, A. P.; SHANAHA, F.; HILL, C.; ROSS, R. P.; O'TOOLE, P. W. - Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. **Nature**. 488:7410 (2012) 178–184. ISSN 00280836.
- COLLADO, M. C.; RAUTAVA, S.; AAKKO, J.; ISOLAURI, E.; SALMINEN, S. - Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. **Scientific Reports**. 6:2 (2016) 1–13. ISSN 20452322.
- FONG, W.; LI, Q.; YU, J. - Gut microbiota modulation: a novel strategy for prevention and treatment of colorectal cancer. **Oncogene**. 39:26 (2020) 4925–4943. ISSN 14765594.
- FRANSEN, F.; VAN BEEK, A. A.; BORGHUIS, T.; EL AIDY, S.; HUGENHOLTZ, F.; VAN DER GAAST - DE JONGH, C.; SAVELKOUL, H. F. J.; DE JONGE, M. I.; BOEKSCHOTEN, M. V.; SMIDT, H.; FAAS, M. M.; DE VOS, P. - Aged gut microbiota contributes to systemical inflammaging after transfer to germ-free mice. **Frontiers in Immunology**. 8 (2017) 1–12. ISSN 16643224.
- GUARNER, F.; SANDERS, M. E.; ELIAKIM, R.; FEDORAK, R.; GANGL, A.; GARISCH, J.;

KAUFMANN, P.; KARAKAN, T.; KHAN, A. G.; KIM, N.; DE PAULA, R. A.; RAMAKRISHNA, B.; SHANAHAN, F.; SZAJEWSKA, H.; THOMSON, A.; LE MAIR, A.; MERENSTEIN, D.; SALMINEN, S. - Diretriz mundial da WGO - Probióticos e prebióticos. **World Gastroenterology Organisation**. 35 (2017).

IVANOV, I. I.; FRUTOS, R. L.; MANEL, N.; YOSHINAGA, K.; RIFKI, D. B.; SARTOR, R. B.; FINLAY, B. B.; LITTMAN, D. R. - Specific microbiota direct the differentiation of Th17 cells in the mucosa of the small intestine. **Cell Host Microbe**. 4:4 (2008) 337–349.

JEONG, J. J.; KIM, K. A.; HWANG, Y. J.; HAN, M. J.; KIM, D. H. - Anti-inflammaging effects of *Lactobacillus brevis* OW38 in aged mice. **Beneficial Microbes**. 7:5 (2016) 707–718. ISSN 18762891.

JIE, Z.; XIA, H.; ZHONG, S.-L.; FENG, Q.; LI, S.; LIANG, S.; ZHONG, H.; LIU, Z.; GAO, Y.; ZHAO, H.; ZHANG, D.; SU, Z.; FANG, Z.; LAN, Z.; LI, J.; XIAO, L.; LI, J.; LI, R.; LI, X.; LI, F.; REN, H.; HUANG, Y.; PENG, Y.; LI, G.; WEN, B.; DONG, B.; CHEN, J.-Y.; GENG, Q.-S.; ZHANG, Z.-W.; YANG, H.; WANG, J.; WANG, J.; ZHANG, X.; MADSEN, L.; BRIX, S.; NING, G.; XUN, X.; LIU, X.; HOU, Y.; JIA, H.; HE, K.; KRISTIANSEN, K. - The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease. **Nature Communications**. 8:1 (2017) 1–11. ISSN 20411723.

LEBRASSEUR, N. K.; TCHKONIA, T.; KIRKLAND, J. L. - Cellular Senescence and the Biology of Aging, Disease, and Frailty. **Nestle Nutrition Institute Workshop Series**. 83 (2015) 11–18. ISSN 16642155.

MAEDA, T.; HORIUCHI, T.; MAKINO, N. - Chromosomal terminal methylation status is associated with gut microbiotic alterations. **Molecular and Cellular Biochemistry**. 476:1 (2021) 157–163. ISSN 15734919.

MANCHIA, M.; PARIBELLO, P.; ARZEDI, C.; BOCCHETTA, A.; CARIA, P.; COCCO, C.; CONGIU, D.; COSSU, E.; DETTORI, T.; V FRAU, D.; GARZILLI, M.; MANCA, E.; MELONI, A.; A MONTIS, M.; MURA, A.; NIEDDU, M.; NOLI, B.; PINNA, F.; PISANU, C.; ROBLEDO, R.; SEVERINO, G.; SOGOS, V.; CHILLOTTI, C.; CARPINIELLO, B.; DEL ZOMPO, M.; FERRI, G. L.; VANNI, R.; SQUASSINA, A. - A multidisciplinary approach to mental illness: Do inflammation, telomere length and microbiota form a loop? A protocol for a cross-sectional study on the complex relationship between inflammation, telomere length, gut microbiota and psychiatric disorders. **BMJ Open**. 10:1 (2020). ISSN 20446055.

MANGIOLA, F.; NICOLETTI, A.; GASBARRINI, A.; PONZIANI, F. R. - Gut microbiota and aging. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**. 22:21 (2018) 7404–7413.

MATHUR, R.; BARLOW, G. M. - Obesity and the microbiome. **Expert Review of Gastroenterology and Hepatology**. 9:8 (2015) 1087–1099. ISSN 17474132.

MAZMANIAN, S. K.; LIU, C. H.; O TZIANABOS, A.; L KASPER, D. - An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. **Cell**. 122:1 (2005) 107–118. ISSN 00928674.

MCGRATTAN, A. M.; MCGUINNESS, B.; MCKINLEY, M. C.; KEE, F.; PASSMORE, P.; WOODSIDE, J. V.; MCEVOY, C. T. - Diet and Inflammation in Cognitive Ageing and Alzheimer's Disease. **Current Nutrition Reports**. 8:2 (2019) 53–65. ISSN 21613311.

MILOSEVIC, I.; VUJOVIC, A.; BARAC, A.; DJELIC, M.; KORAC, M.; SPURNIC, A. R.; GMIZIC, I.; STEVANOVIC, O.; DJORDJEVIC, V.; LEKIC, N.; RUSSO, E.; AMEDEI, A. - Gut-Liver Axis, Gut Microbiota, and its Modulation in the Management of Liver Diseases: A Review of the Literature. **International Journal of Molecular Sciences**. 20:2 (2019) 1–16. ISSN 14220067.

MÜEZZINLER, A.; ZAINEDDIN, A. K.; BRENNER, H. - A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. **Elsevier**. 12:2 (2013) 509–519. ISSN 15681637.

NAGENDRA, S.; GURAV, A.; SIVAPRAKASAM, S.; BRADY, E.; PADIA, R.; SHI, H.; THANGARAJU, M.; PRASAD, P. D.; MANICASSAMY, S.; MUNN, D. H.; LEE, J. R.; OFFERMANN, S.; GANAPATHY, V. - Activation of the receptor (Gpr109a) for niacin and the commensal metabolite butyrate suppresses colonic inflammation and carcinogenesis. **Immunity**. 40:1 (2015) 706–721.

NAGPAL, R.; MAINALI, R.; AHMADI, S.; WANG, S.; SINGH, R.; KAVANAGH, K.; KITZMAN, D. W.; KUSHUGULOVA, A.; MAROTTA, F.; YADAV, H. - Gut microbiome and aging: Physiological and mechanistic insights. **Nutrition and Healthy Aging**. 4:4 (2018) 267–285. ISSN 24519502.

NAKAYAMA, J.; WATANABE, K.; JIANG, J.; MATSUDA, K.; CHAO, S.-H.; HARYONO, P.; LA-ONGKHAM, O.; SARWOKO, M.-A.; SUJAYA, I. N.; ZHAO, L.; CHEN, K.-T.; CHEN, Y.-P.; CHIU, H.-H.; HIDAKA, T.; HUANG, N.-X.; KIYOHARA, C.; KURAKAWA, T.; SAKAMOTO, N.; SONOMOTO, K.; TASHIRO, K.; TSUJI, H.; CHEN, M.-J.; LEELAVATCHARAMAS, V.; LIAO, C.-C.; NITISINPRASERT, S.; RAHAYU, E. S.; REN, F.-Z.; TSAI, Y.-C.; LEE, Y.-K. - Diversity in gut bacterial community of school-age children in Asia. **Scientific Reports**. 5 (2015) 1–12. ISSN 20452322.

OSTAN, R.; LANZARINI, C.; PINI, E.; SCURTI, M.; VIANELLO, D.; BERTARELLI, C.; FABRI, C.; IZZI, M.; PALMAS, G.; BIONDI, F.; MARTUCCI, M.; BELLAVISTA, E.; SALVIOLI, S.; CAPRI, M.; FRANCESCHI, C.; SANTORO, A. - Inflammaging and Cancer: A Challenge for the Mediterranean Diet. **Nutrients**. 7:4 (2015) 2589–2621. ISSN 20726643.

PANICKAR, K. S.; JEWELL, D. E. - The beneficial role of anti-inflammatory dietary ingredients in attenuating markers of chronic low-grade inflammation in aging. **Hormone Molecular Biology**

and Clinical Investigation. 23:2 (2015) 59–70. ISSN 18681891.

RAJOKA, M. S. R.; ZHAO, H.; LI, N.; LU, Y.; LIAN, Z.; SHAO, D.; LI, Q.; ZHAO, L.; SHI, J. - Origination , change , and modulation of geriatric disease-related gut microbiota during life. **Applied Microbiology and Biotechnology.** 102:19 (2018) 8275–8289.

SHARON, G.; CRUZ, N. J.; KANG, D.-W.; GANDAL, M. J.; WANG, B.; KIM, Y.-M.; ZINK, E. M.; CASEY, C. P.; TAYLOR, B. C.; LANE, C. J.; BRAMER, L. M.; ISERN, N. G.; HOYT, D. W.; NOECKER, C.; SWEREDOSKI, M. J.; MORADIANI, A.; BORENSTEIN, E.; JANSSON, J. K.; KNIGHT, R.; METZ, T. O.; LOISI, C.; GESCHWIND, D. H.; KRAJMALNIK-BROWN, R.; MAZMANIAN, S. K. - Human Gut Microbiota from Autism Spectrum Disorder Promote Behavioral Symptoms in Mice. **Cell.** 177:6 (2020) 1600–1618.

SHINOHARA, R.; SASAKI, K.; INOUE, J.; HOSHI, N.; FUKUDA, I.; SASAKI, D.; KONDO, A.; OSAWA, R. - Butyryl-CoA: Acetate CoA-transferase gene associated with the genus Roseburia is decreased in the gut microbiota of Japanese patients with ulcerative colitis. **Bioscience of Microbiota, Food and Health.** 38:4 (2019) 159–163. ISSN 21863342.

SHREINER, A. B.; KAO, J. Y.; YOUNG, V. B. - The gut microbiome in health and in disease. **Curr Opin Gastroenterol.** 31:1 (2016) 69–75. ISSN 00280836.

SOMMER, F.; BÄCKHED, F. - The gut microbiota-masters of host development and physiology. **Nature Reviews Microbiology.** 11:4 (2013) 227–238. ISSN 17401526.

WALSH, C. J.; GUINANE, C. M.; O'TOOLE, P. W.; COTTER, P. D. - Beneficial modulation of the gut microbiota. **FEBS Letters.** 588:22 (2014) 4120–4130. ISSN 18733468.

WU, Z.; YU, J.; ZHU, A.; NAKANISHI, H. - Nutrients, Microglia Aging, and Brain Aging. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity.** (2016) ISSN 19420994.

XU, Z.; KNIGHT, R. - Dietary effects on human gut microbiome diversity. **The British journal of nutrition.** 113 (2015) S1–S5. ISSN 14752662.

ZHAO, Q.; HARBOUR, S. N.; KOLDE, R.; LATORRE, I. J.; TUN, H. M.; SCHOEB, T. R.; TURNER, H.; MOON, J. J.; KHAFIPOUR, E.; XAVIER, R. J.; WEAVER, C. T.; ELSON, C. O. - Selective Induction of Homeostatic Th17 Cells in the Murine Intestine by Cholera Toxin Interacting with the Microbiota. **The Journal of Immunology.** 176:1 (2017) 139–148.