



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Inês Isabel da Costa Graça

Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Capitolina Figueiredo Pinho e do Dr. David Costa e Monografia intitulada “O Impacto da Microbiota Intestinal na Neurodegeneração” sob a orientação da Professora Doutora Carla Maria dos Santos Nunes, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



# UNIVERSIDADE D COIMBRA

Inês Isabel da Costa Graça

Relatórios de Estágio sob a orientação da Dra. Capitolina Figueiredo Pinho e do Dr. David Costa e Monografia intitulada “O Impacto da Microbiota Intestinal na Neurodegeneração” sob a orientação da Professora Doutora Carla Maria dos Santos Nunes, referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023

Eu, Inês Isabel da Costa Graça, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2018293783, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Impacto da Microbiota Intestinal na Neurodegeneração” apresentado 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, 1 de setembro de 2023

*Inês Isabel da Costa Graça*

---

(Inês Isabel da Costa Graça)

## **Agradecimentos**

À minha mãe, por todo o amor, apoio e orgulho incondicional, por celebrar todas as minhas vitórias como se fossem dela, por ser a melhor companheira em todos os altos e baixos dos últimos anos, por garantir que nunca me sentia sozinha e por tornar tudo isto possível. Serás para sempre o meu grande exemplo.

Aos meus irmãos, ao meu pai e à minha madrinha, por toda a preocupação e apoio que me deram ao longo deste percurso e por estarem lá nos bons e maus momentos.

À minha madrinha de praxe, por todos os conselhos que me deu, por todas as horas em chamada que tivemos, por me guiares ao longo deste percurso e por todos os cafézinhos.

À Joana, por ser dos meus maiores apoios desde sempre, por ter vindo comigo fazer este percurso e continuar comigo, por todas as gargalhadas e conversas na cozinha.

Às de sempre, à Tânia, à Rita, à Sofia e à Bia, por serem um pilar deste percurso, por todas as gargalhadas e bons momentos. Por serem casa e um espaço aberto de amor e compreensão.

À Graça, à Diana, ao Marquito, ao DJ, à Costa e ao Tiago, por serem as pessoas que fizeram este percurso comigo, por todos os momentos partilhados e por termos crescido juntos. Apesar de não estarem desde sempre, tenho a certeza de que ficarão para sempre comigo, seja em Guimarães ou em férias no Algarve.

À Carmen, por todo o apoio e carinho que me deu no último ano, por todas as conversas e por todos os conselhos. Por tudo o que me ensinaste sobre mim e por toda a confiança que depositaste em mim. Embora não estejas desde início, sei que ficarás para sempre.

À minha orientadora, Professora Doutora Carla Maria dos Santos Nunes, pelo apoio na elaboração desta monografia e por toda a sua disponibilidade e preocupação.

Aos meus orientadores de estágio, Dra. Capitolina Figueiredo Pinho e Dr. David Dias Costa, pelos seus ensinamentos e apoio em todas as tarefas com que me desafiaram a aprender.

Às excelentes equipas técnicas com que tive a oportunidade de trabalhar, pelo carinho com que me receberam e incluíram no seu dia-a-dia profissional, assim como por todas as experiências e cumplicidade partilhadas.

A todos, o meu muito obrigada.

# Índice

## Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas .....	8
Introdução .....	9
1 A Farmácia Figueiredo .....	9
2 Análise SWOT .....	10
2.1 Pontos Fortes .....	11
2.1.1 Diversidade de Tarefas .....	11
2.1.2 Ambiente e Equipa Técnica .....	12
2.1.3 Aconselhamento .....	12
2.1.4 Medição de Parâmetros Analíticos .....	13
2.2 Pontos Fracos .....	13
2.2.1 Aconselhamento .....	13
2.2.2 Dificuldade de Associação dos Princípios Ativos aos Nomes Comerciais .....	13
2.2.3 Manipulados .....	14
2.3 Oportunidades .....	14
2.3.1 Atividades Desenvolvidas pela FF .....	14
2.3.2 Homeopatia .....	14
2.3.3 Filosofia Kaizen .....	15
2.3.4 Formações Contínuas .....	15
2.4 Ameaças .....	16
2.4.1 Medicamentos Esgotados .....	16
2.4.2 Farmácias Envolventes e Locais de Venda de MNSRM .....	17
Casos Práticos .....	17
Considerações Finais .....	20
Referências Bibliográficas .....	21
Anexos .....	22

## Parte II – Relatório de Estágio em Assuntos Regulamentares

Abreviaturas .....	24
Introdução .....	25
1 BasePoint Consulting Services .....	25
2 Análise SWOT .....	26
2.1 Pontos Fortes .....	27
2.1.1 Equipa .....	27
2.1.2 Diversidade de Tarefas .....	28
2.1.3 Desenvolvimento das Tecnologias de Informação .....	29
2.1.4 Teletrabalho .....	29
2.2 Pontos Fracos .....	30
2.2.1 Duração do Estágio .....	30
2.2.2 Teletrabalho .....	30
2.3 Oportunidades .....	30
2.3.1 Trabalho com Clientes .....	30

2.4 Ameaças.....	31
2.4.1 Pressão e Carga de Trabalho Durante do Verão .....	31
Considerações Finais.....	31
Referências Bibliográficas.....	33

### **Parte III – O Impacto da Microbiota Intestinal na Neurodegeneração**

Lista de Abreviaturas .....	35
Resumo .....	37
Abstract .....	38
Introdução .....	39
1 Microbiota Intestinal no Ser Humano.....	40
1.1 Composição da Microbiota Intestinal.....	40
1.2 Desenvolvimento da Microbiota Intestinal ao Longo da Vida.....	40
1.3 Fatores que Influenciam a Microbiota Intestinal.....	41
1.3.1 Dieta.....	42
1.3.2 Estilo de Vida.....	44
1.3.3 Antibióticos .....	45
1.4 Funções da Microbiota Intestinal .....	45
2 Eixo Microbiota-Intestino-Cérebro .....	46
2.1 Vias de Comunicação Microbiota-Intestino-Cérebro.....	46
2.1.1 Via Neuronal .....	47
2.1.2 Via Endócrina.....	48
2.1.3 Via Imunológica.....	49
2.1.4 Via Metabólica.....	50
3 Doenças Neurodegenerativas .....	52
3.1 Doença de Parkinson.....	54
3.1.1 Etiopatogenia.....	54
3.1.2 A Disbiose Intestinal na Doença de Parkinson.....	56
3.2 Doença de Alzheimer.....	57
3.2.1 Etiopatogenia.....	57
3.2.2 A Disbiose Intestinal na Doença de Alzheimer .....	58
3.3 Potenciais Intervenções Terapêuticas Baseadas na Modulação da Microbiota Intestinal .....	59
3.3.1 Probióticos, Prebióticos e Simbióticos.....	60
3.3.2 Transplante de Microbiota Fecal.....	63
3.3.3 Antibióticos .....	64
3.3.4 Dieta.....	65
Conclusão e Perspetivas Futuras.....	66
Referências Bibliográficas.....	67

# Capítulo I

## Relatório em Farmácia Comunitária

### Farmácia Figueiredo



Estágio sob orientação da Dra. Capitolina Figueiredo Pinho

## **Lista de Abreviaturas**

**CDOF** – Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos

**DCI** – Denominação Comum Internacional

**EC** – Estágio Curricular

**FC** – Farmácia Comunitária

**FF** – Farmácia Figueiredo

**INFARMED** – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde

**MICF** – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

**MNSRM** – Medicamento Não-Sujeito a Receita Médica

**MSRM** – Medicamento Sujeito a Receita Médica

**PIM** – Preparação Individualizada de Medicação

**SWOT** – *Strenghts* (Forças), *Weaknesses* (Fraquezas), *Opportunities* (Oportunidades) e *Threats* (Ameaças)



## **Introdução**

No âmbito da unidade curricular “Estágio Curricular” (EC), inserida no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, realizei estágio na Farmácia Figueiredo (FF), no período de 9 de janeiro de 2023 a 28 de abril de 2023, contemplando uma duração de 670 horas, sob orientação da Dra. Capitolina Figueiredo Pinho, assim como de toda a equipa.

Este estágio compreende uma elevada importância para o meu percurso formativo, ao marcar a transição entre um ensino predominantemente teórico e preparatório para a aplicação do mesmo em contexto real. Assim, o contacto com a realidade profissional e com os diversos produtos com que o farmacêutico interage diariamente ofereceu-me segurança e melhoria das minhas capacidades, tanto científicas como de comunicação.

No presente relatório elaboro uma análise crítica do meu estágio curricular na FF, recorrendo ao modelo SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*).

### **I A Farmácia Figueiredo**

A FF foi inaugurada em 1928, mas só em 1946 se transferiu para a Rua da Sofia nº 107, em Coimbra, local onde está sediada atualmente. Encontra-se assim numa localização privilegiada, por ter elevada proximidade de um lar de terceira idade, uma associação de solidariedade social, vários consultórios médicos de diversas especialidades e ainda uma clínica médica.

Os recursos humanos da FF são compostos pela Dra. Capitolina Figueiredo Pinho, proprietária e Diretora Técnica, pela Dra. Patrícia Costa, farmacêutica substituta, pela Dra. Inês Lopes Pereira e Dra. Sara Pereira, farmacêuticas, e pela Liliana Lourenço, técnica de farmácia. Quanto à população abrangida, esta é bastante heterogénea, tanto a nível de faixa etária como de classe social e profissional, embora os utentes mais frequentes sejam idosos.

No que respeita às suas instalações, a FF é constituída por 5 pisos, destacando-se, em primeiro lugar, o piso -1 – o *backoffice* – onde são realizadas todas as atividades relacionadas com receção e armazenamento de medicamentos e com gestão de devoluções e de *stocks*. Adicionalmente, é aqui realizada a preparação de medicamentos extemporâneos, em bancada própria.

De seguida, no Piso 0 – o local de atendimento aos utentes – encontram-se quatro balcões de atendimento ao público, expositores com diferentes gamas de produtos cosméticos

e lineares com medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM), suplementos alimentares e dispositivos médicos. Além disso, existem ainda gavetas atrás dos balcões, nas quais se armazenam os medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) que apresentam mais rotatividade.

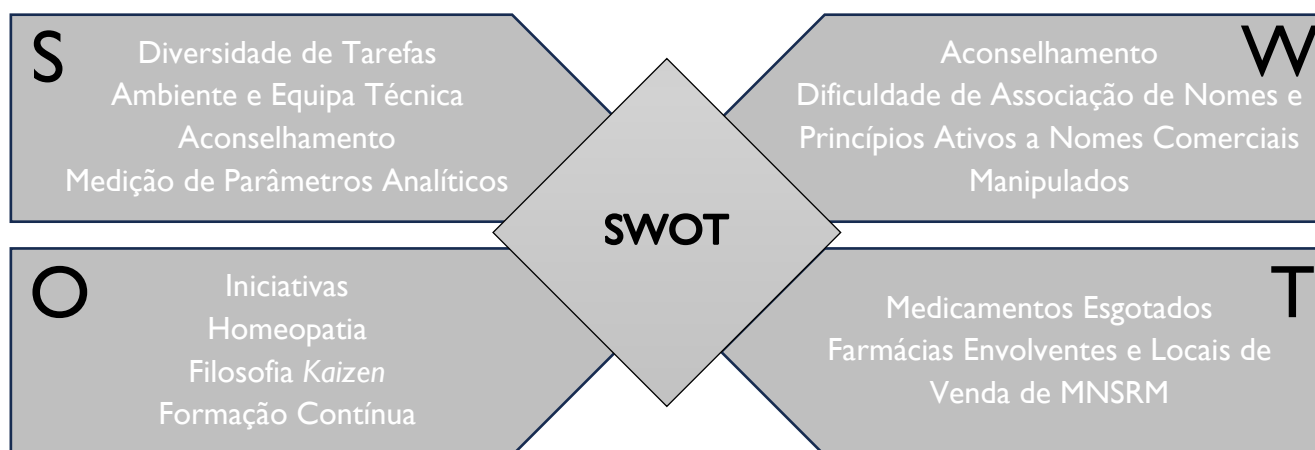
Segue-se o Piso 1, local de realização de exames laboratoriais. Um dos muitos serviços prestados pela FF é a medição de parâmetros sanguíneos, como a glicémia e o colesterol total, que decorre neste piso. É também o local de exposição de produtos de cosmética que, por motivos de marketing, já não se encontram no piso de atendimento. Ainda neste piso são realizadas consultas mensais de podologia, por entidade externa à farmácia.

O Piso 2, por sua vez, é onde se encontra o gabinete de atendimento personalizado aos utentes, no qual são realizadas consultas semanais de nutrição, por uma parceira nutricionista externa à farmácia, assim como mini-faciais e outros trabalhos necessários de realizar pela equipa da FF. Adicionalmente, neste piso encontra-se outro gabinete que, devido à pandemia de COVID-19, se destina à realização de testes rápidos de antigénio, com as respetivas medidas de segurança.

Por fim, o Piso 3 é local do gabinete da direção técnica e do laboratório e zona de pessoal. No gabinete em questão, são realizadas as reuniões mais importantes da FF; no laboratório, é feita a preparação individualizada de medicação (PIMs), que constitui outro serviço prestado pela FF.

## 2 Análise SWOT

O termo SWOT é acrónimo de *Strengths* (Forças), *Weaknesses* (Fraquezas), *Opportunities* (Oportunidades) e *Threats* (Ameaças), permitindo deste modo identificar as forças e fraquezas do objeto de análise, por avaliação interna, e as oportunidades e ameaças do meio que lhe é envolvente, através de uma avaliação externa. Resultam desta análise as eventuais vantagens a proteger, e desvantagens a eliminar<sup>1</sup>. Neste contexto, a Figura 1 resume os principais pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças deste estágio.



**Figura 1:** Análise SWOT

## 2.1 Pontos Fortes

### 2.1.1 Diversidade de Tarefas

O plano de estágio preparado pela FF compreende uma introdução gradual às diferentes tarefas, levando a maior diversidade das mesmas, o que contribui para uma melhor perceção da dinâmica de uma farmácia comunitária.

Assim, o meu estágio teve início no *backoffice*, onde as tarefas realizadas passaram pela receção e armazenamento de encomendas, assim como pela gestão de stocks e conferência de prazos de validade. Esta fase permitiu a familiarização com as embalagens e nomes comerciais dos medicamentos. Após um mês, passei para o piso 3 da FF, onde realizei a preparação individualizada de medicação (PIM), que possibilitou, também, um reforço da associação dos princípios ativos dos medicamentos aos seus nomes comerciais.

Estas tarefas, numa fase preparatória, acompanhadas pela aprendizagem observacional, através da observação de atendimentos, foram imprescindíveis para entender o funcionamento de uma farmácia comunitária e tornar o posterior atendimento ao público mais fluido e confortável.

Por último, ocorreu então esta transição para o atendimento, no qual consegui desenvolver capacidades de aconselhamento farmacêutico, assim como assistir à organização da documentação de saída de psicotrópicos, à faturação para instituições e ainda ter contacto com diversos planos de participação.

### **2.1.2 Ambiente e Equipa Técnica**

A FF, apesar de deter um espaço físico limitado, continua a ser a primeira escolha de muitos utentes, visto que a sua equipa, com alguns anos de casa, já apresenta um estatuto quase familiar junto da população que serve. Esta proximidade aumenta a confiança da mesma no aconselhamento farmacêutico desempenhado pela FF e leva, assim, à repetida escolha dos utentes pelos seus serviços. Por conseguinte, o ambiente de entreajuda e sensibilidade sentido na FF foi um ponto forte do meu estágio, visto que me proporcionou um espaço aberto para errar e esclarecer qualquer dúvida, assim como para aprender a gerir responsabilidades que me foram atribuídas, com supervisão de um elemento efetivo da farmácia. Foram-me também transmitidas, de modo contante, noções gerais do papel de um farmacêutico em farmácia comunitária e na sociedade.

Em suma, o sentimento de acolhimento, integração, a confiança e o espírito de união transmitidos pela equipa foram fulcrais para o sucesso deste estágio, motivando-me a evoluir como profissional de saúde e adaptar-me à prática da atividade profissional.

### **2.1.3 Aconselhamento**

Segundo a Ordem dos Farmacêuticos, o aconselhamento farmacêutico pode ser entendido como “o ato através do qual o farmacêutico orienta, sugere, alerta, informa e tenta obter a concordância dos doentes, de modo a garantir a tomada de uma decisão correta sobre a melhor forma de cuidar da sua saúde”<sup>2</sup>, deste modo evidenciando o enorme impacto que o farmacêutico detém na qualidade de vida dos utentes. Assim, um dos pontos fortes do meu EC na FF prendeu-se precisamente com a possibilidade de aprender e praticar este aconselhamento, prática de extrema importância na formação de um farmacêutico, devido à sua constante presença na profissão.

Como referido, esta aprendizagem iniciou-se por um período de observação, evoluindo mais tarde para um atendimento mais autónomo. Esta introdução gradual à interação com o utente constituiu em si mesma também um ponto forte, já que me permitiu, numa primeira fase, consolidar os conhecimentos que adquiri ao longo da minha formação académica, assim como agilizar o meu raciocínio de associação de sintomatologia a possíveis soluções terapêuticas, e posteriormente pôr em prática estes ensinamentos com maior qualidade.

#### **2.1.4 Medição de Parâmetros Analíticos**

A FF apresenta uma vasta lista de serviços farmacêuticos prestados aos seus utentes, com vista à promoção da saúde e bem-estar dos mesmos, sendo exemplos a medição de parâmetros analíticos como a glicémia, pressão arterial, colesterol, peso e altura. Posto isto, foi-me possibilitada, desde cedo, a realização da medição destes parâmetros, promovendo a introdução do meu contacto com o público e a conquista de uma relação de confiança com o mesmo, dada a proximidade necessária do utente no desempenho destes serviços. Neste contexto, é de realçar a atividade realizada pela FF no Dia Mundial da Saúde, referida no ponto 4.3.1, que levou à execução de um rastreio à entrada da farmácia, para a medição de parâmetros como a glicémia e a pressão arterial, reforçando ainda mais o enunciado.

A contribuição destes serviços, pertencentes ao dia-a-dia do farmacêutico comunitário, para a prática que obtive no que respeita à interação com os utentes permite-me, assim, considerar a medição de parâmetros analíticos um ponto forte do meu EC na FF.

### **2.2 Pontos Fracos**

#### **2.2.1 Aconselhamento**

Embora o plano de estudos do MICF possua uma vasta formação, considerei que a mesma se revelou ainda insuficiente neste tópico, devido à grande quantidade de produtos (especialmente MNSRM e produtos de saúde) com que temos contacto na farmácia. Deste modo, embora o aconselhamento tenha sido uma oportunidade de aprendizagem de extrema importância, foi também um ponto que não senti segurança em abordar com os conhecimentos que obtive durante a minha formação académica, o que se refletiu num atendimento menos fluido.

Esta barreira foi desvanecendo com o passar do tempo, especialmente devido à observação de atendimentos realizados pela equipa técnica da FF, com o intuito de compreender as questões fulcrais a serem colocadas em cada situação e o seguimento da decisão farmacêutica.

#### **2.2.2 Dificuldade de Associação dos Princípios Ativos aos Nomes Comerciais**

Ao longo do curso, é centralizada a abordagem de ensino à Denominação Comum Internacional (DCI) dos medicamentos, tal como acontece na prescrição médica. No entanto, foi perceptível a preferência, por parte dos utentes, por medicamentos de marca, dificultando a associação do DCI ao nome comercial no momento do atendimento.

Apesar de inicialmente sentidas, tais dificuldades foram desaparecendo com o passar do tempo e com o crescente contacto com os medicamentos durante a receção de encomendas, arrumação de produtos e cedência dos mesmos, tendo sido também, pela mesma razão, uma mais-valia a realização de PIMs.

### **2.2.3 Manipulados**

O INFARMED define um medicamento manipulado como “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”<sup>3</sup>. Assim, estes possibilitam uma ótima oportunidade de aplicar, em contexto real, conhecimentos adquiridos ao longo do percurso académico, em unidades curriculares como Farmácia Galénica e Tecnologia Farmacêutica.

No entanto, a FF não realiza este serviço, limitação que considero um ponto fraco do meu EC, por ser uma área tão importante e presente no dia-a-dia dos farmacêuticos em FC.

## **2.3 Oportunidades**

### **2.3.1 Atividades Desenvolvidas pela FF**

Ao longo dos 4 meses em que me encontrei em estágio na FF, tive a oportunidade de fazer parte de várias iniciativas que, pelas razões que detalho de seguida, saliento como importantes oportunidades do meu EC.

Destas, destacaria em primeiro lugar o rastreio que se realizou no Dia Mundial de Saúde, durante o qual passei grande parte do dia à entrada da farmácia a prestar os serviços de medição da pressão arterial e de determinação da glicémia, sem custos associados, de modo a promover a educação para a saúde. Esta atividade foi muito útil, já que constituiu uma forma de contactar com utentes e de obter a confiança dos mesmos, assim como de adquirir alguma experiência na leitura e interpretação de valores das medições referidas.

Outro exemplo seria o Rastreio do Sono, que decorreu durante o mês de abril e foi organizado pela Apoteca Natura, uma rede de farmácias independentes, à qual, a FF pertence. Durante esta atividade, realizei vários inquéritos aos utentes da FF sobre a qualidade de sono dos mesmos, o que potenciou, tal como a realização dos rastreios acima mencionados, a construção da relação de confiança pretendida com os utentes da FF.

### **2.3.2 Homeopatia**

Segundo o Decreto-Lei nº176/2006, de 30 de agosto, medicamento homeopático é o medicamento que se obtém a partir de substâncias denominadas stocks, ou matérias-primas

homeopáticas, de acordo com um processo de fabrico descrito na farmacopeia europeia ou, na sua falta, em farmacopeia utilizada de modo oficial num Estado-Membro. A preparação de medicamentos homeopáticos envolve a utilização de quantidades mínimas de substâncias ativas, obtidas através de diluições e dinamizações sucessivas <sup>4</sup>.

Embora esta prática não seja tão popular em Portugal como é em outros países da Europa, nomeadamente a França e a Alemanha, ao longo do meu EC deparei-me com a mesma várias vezes, visto que a FF é uma farmácia reconhecida pela homeopatia. Considero que o contacto que tive com esta área na farmácia foi de elevada importância, porque não possuía conhecimento nesta área, não sendo a mesma explorada no plano curricular de MICEF, mas ainda por considerar que, como profissionais de saúde, temos o dever de possuir conhecimento sobre todos os produtos da farmácia, incluindo a homeopatia, a fim de poder realizar um aconselhamento farmacêutico de qualidade. Desta forma, considero o contacto com a homeopatia uma oportunidade do meu EC.

### **2.3.3 Filosofia Kaizen**

A palavra *Kaizen* tem origem japonesa, na união de *kai*, que significa “mudar”, e *zen*, que significa “para melhor”. Assim, a filosofia *Kaizen* tem como princípio a melhoria contínua, para o atingimento da qual considera que pequenas mudanças positivas que envolvam todos os profissionais de uma dada equipa são a melhor opção. Promove, deste modo, o trabalho em equipa e a constante procura pelo melhor desempenho e ambiente profissionais<sup>5</sup>.

A implementação desta filosofia na farmácia foi-me evidenciada desde o início do EC, mostrando-se uma mais-valia, em especial na FF devido ao seu espaço limitado, e levando a um menor desperdício, quer de recursos, quer de tempo. A equipa da FF é constantemente deparada com dificuldades de arrumação, pelo que esta metodologia permitiu, não só, definir um local permanente para os diversos itens, mas também melhorar o aproveitamento do espaço disponível. A aprendizagem e aplicação prática da filosofia *Kaizen* foi, por isto, uma oportunidade a destacar no meu EC.

### **2.3.4 Formações Contínuas**

Segundo o Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos (CDOF), o farmacêutico tem o dever de estar em constante atualização dos seus conhecimentos técnicos e científicos, uma vez que a área das ciências da saúde se encontra em contínua evolução <sup>6</sup>. De igual modo, o mercado envolvente da prática farmacêutica encontra-se em constante inovação e a apresentação de novas gamas e produtos vem frequentemente acompanhada de

formações presenciais direcionadas ao setor, que considero uma oportunidade importante do meu EC.

No meu EC, fui sempre incentivada a participar nas formações para as quais a FF era convidada, assim como nas que ocorriam no próprio estabelecimento. São alguns exemplos a PharmaNord<sup>®</sup>, no papel do selénio na terapêutica de patologias da tiróide; a Elgydium<sup>®</sup>, com a gama Elgydium Fix<sup>®</sup>; a Ordem dos Farmacêuticos nas jornadas de Acessibilidade e Reserva Estratégica de Medicamentos e de Produtos de Saúde – Desafios e Estratégias e a Zambon<sup>®</sup>, com a apresentação de novos produtos. Na FF, salienta-se, em primeiro lugar, a Apoteca Natura e Aboca, cujas oportunidades de formação constituíram algo vantajoso, não só como aprendizagem, mas também como auxílio do aconselhamento, visto que a FF possui reconhecidamente este tipo de produtos fitoterapêuticos; e a Pranarom<sup>®</sup> (Aromaterapia), outra das marcas frequentes nesta farmácia e que, tal como as anteriores, levou ao melhor conhecimento das ações e indicações terapêuticas dos seus produtos.

## **2.4 Ameaças**

### **2.4.1 Medicamentos Esgotados**

Considero o elevado número de medicamentos esgotados uma das maiores ameaças ao meu estágio, visto que era algo com que me deparava diariamente, aquando da solicitação por parte dos utentes de medicamentos que se encontravam esgotados em todos os armazenistas.

Embora ocorresse a realização de encomendas, os produtos não eram enviados à farmácia por inexistência de stock nos armazenistas, caracterizando-se este como um fator fora do controlo imediato, tanto do farmacêutico, como da farmácia. Tal situação representa um problema gravíssimo, especialmente para utentes com medicação diária para patologias crónicas, para os quais não exista alternativa de medicamento equivalente, e ainda para utentes que se recusam a mudar de laboratório. Na primeira situação, face à inexistência de alternativa, esta implica uma substituição do medicamento, por parte do médico; já na situação posterior, cabe ao farmacêutico apelar e explicar que a troca por um medicamento alternativo será sempre mais benéfica do que a cessação terapêutica.

Independentemente da situação em questão, o utente acaba sempre por demonstrar o seu descontentamento e insatisfação, os quais, por vezes, se direcionam ao farmacêutico e às suas capacidades como profissional de saúde, e relevam que esta situação se traduz numa acrescida dificuldade de manutenção da terapêutica.



## **2.4.2 Farmácias Envolventes e Locais de Venda de MNSRM**

A FF, como mencionado anteriormente, encontra-se na Rua da Sofia, em Coimbra. Existindo mais 5 farmácias num raio de um quilómetro da mesma, das quais algumas possuem horário mais alargado em comparação com a primeira, torna-se indubitavelmente elevada a competitividade. A esta, acrescenta-se ainda a elevada proximidade a uma grande superfície comercial com venda de MNSRM, que podem apresentar valores mais apelativos para os utentes, possibilitada pelo Decreto-Lei nº134/2005 <sup>7</sup>. Esta mudança levou a uma destabilização da faturação pelas farmácias, visto que, com a situação socioeconómica da população portuguesa, a mesma opta por adquirir os produtos no local onde o preço se encontra mais acessível. Para além disto, estas circunstâncias podem ainda levar a interações farmacológicas indesejáveis, já que estes medicamentos são vendidos sem a intervenção de uma entidade devidamente formada.

### **Casos Práticos**

#### **Caso Prático 1**

Utente dirige-se à farmácia com uma receita de antibiótico em gotas, para a otite do filho de 15 anos. Este queixa-se que o filho desenvolve otites recorrentes e pede aconselhamento preventivo para esta situação.

Sendo que estados gripais podem levar à acumulação de muco e ao conseqüente entupimento do nariz, nestes contextos há aumento da proliferação microbiana local. Encontrando-se dificultado o arejamento do ouvido médio através da trompa de Eustáquio, já que o seu orifício interno se encontra, nestas situações, obliterado, pode seguir-se o desenvolvimento de uma otite.

Deste modo, foi dispensado ao utente o antibiótico prescrito e aconselhada a lavagem do nariz com uma solução salina, de forma a evitar a situação acima descrita e prevenir o desenvolvimento de futuras otites.

#### **Caso Prático 2**

Utente do sexo feminino, com 52 anos, dirige-se à farmácia com queixas de ardor e prurido vaginais, referindo ter ocorrido o mesmo no passado e solicitando Gino-canesten<sup>®</sup>, comprimidos vaginais, por ter usado nesse último episódio, com resolução das queixas.

São colocadas questões para entender se estamos perante uma situação de candidíase vaginal, uma infeção fúngica vaginal provocada pelo fungo *Candida albicans*, vaginose bacteriana, caracterizada pelo crescimento excessivo de múltiplas bactérias patogénicas, ou simplesmente de secura vaginal. Dado que estes quadros clínicos podem apresentar sintomas semelhantes, é importante questionar se a cor do muco é esbranquiçada (como na candidíase), se possui uma cor esverdeada e cheiro intenso (indicador de vaginose), ou se não tem alterações (como na secura vaginal), assim como qual a duração dos sintomas e se houve episódios semelhantes anteriormente. Estas diferenças são relevantes, dado que muitas utentes de maior idade recorrem a tratamentos para a candidíase quando têm apenas sintomas de secura vaginal.

Chegando-se à conclusão de que se tratava de uma candidíase, discutiram-se de seguida as opções terapêuticas disponíveis para a utente. O produto Gino-canesten<sup>®</sup> consiste em comprimidos vaginais contendo 100mg de clotrimazol (um antifúngico de largo espetro), num tratamento de 6 dias que deve ser realizado até ao fim<sup>8</sup>. Por outro lado, o Lomexin<sup>®</sup>, 600mg de fenticonazol, consiste num MNSRM-EF de administração única de uma cápsula mole vaginal, podendo efetuar-se uma segunda administração no caso de os sintomas persistirem por mais de três dias. Este esquema é, por norma, uma vantagem na adesão terapêutica das utentes, já que exige apenas uma administração<sup>9</sup>.

Neste contexto, é relevante salientar que os MNSRM-EF são uma mais-valia para os farmacêuticos e para os utentes, pois ainda que detendo a facilidade de não exigirem prescrição médica para a sua compra, permitem uma dispensa supervisionada por um profissional de saúde qualificado, como o farmacêutico. Este é, assim, um fator diferenciador, que permite uma utilização eficaz e segura do medicamento, baseada no uso racional do mesmo e que evita situações de automedicação.

Neste caso, foi então dispensado o Lomexin<sup>®</sup>, seguindo-se o seu protocolo de dispensa exclusiva em farmácia<sup>9</sup>, e alertou-se ainda a utente para os hábitos que deverá seguir por forma a evitar futuras infeções, tal como o uso de roupa interior de algodão e de correta higiene íntima diária.

### **Caso Prático 3**

Utente recorre à farmácia com o intuito de levantar uma receita contendo um antibiótico, a ciprofloxacina, e mostra, ao mesmo tempo, o seu cartão de alergias (figura 2 do ponto - Anexos), que demonstra a sua alergia às quinolonas. Tal caso suscitou de imediato a atenção da equipa, procedendo-se ao aconselhamento da revisão da prescrição do antibiótico pelo médico, visto que a utente apresentava alergia ao mesmo. Foi então explicada a situação

à utente, que compreendeu e concordou com o aconselhamento, não levando o antibiótico. Retomou dias depois à farmácia, com uma receita nova, para um antibiótico que não lhe causaria alergia.

Momentos como este são ótimos para educação da população, tendo a equipa lembrado que, tanto cartões de alergias, como cartões do uso de anticoagulantes, devem ser evidenciados em todos os estabelecimentos de saúde. Em atenção especial, deverá ter-se a realização de extrações e cirurgias dentárias, por frequentemente não serem vistas pelos utentes como igualmente detentoras de riscos hemorrágicos.

#### **Caso Prático 4**

Utente, sexo masculino, dirige-se à farmácia com queixas de diarreia, pedindo aconselhamento para melhoria dos sintomas.

São colocadas questões sobre os seus hábitos diários, medicação habitual e viagens recentes, observando-se que o mesmo toma sertralina – um medicamento antidepressivo inibidor seletivo da recaptção da serotonina – a qual apresenta, como um dos efeitos secundários comuns, a diarreia <sup>10</sup>.

Sendo este um efeito secundário de uma terapêutica contínua, que não tem data de cessação, foi aconselhado ao doente um suplemento com probióticos e prebióticos, isto é, um simbiótico. Nestes, importa saber que os probióticos são organismos vivos, que exercem um efeito positivo na microbiota intestinal, e os prebióticos são fonte de alimento para os probióticos, possuindo efeitos preventivos e terapêuticos contra a diarreia.

Visto que o sintoma do utente é secundário a um medicamento, é também aconselhada a vigilância da persistência do mesmo e, no caso de se tornar intolerável, o encaminhamento ao médico para possível revisão da tabela terapêutica. Alertou-se ainda que a diarreia pode levar à desidratação, sendo aconselhado o consumo de elevadas quantidades de líquidos.

#### **Caso Prático 5**

Utente do sexo feminino, chega à farmácia com queixa de desconforto e mal-estar característicos de infeção urinária, sendo este um problema recorrente, e pede um antibiótico.

Visto que os antibióticos são MSRM, não foi possível dispensar o mesmo sem receita. No entanto, neste cenário é importante alertar e educar a população para o uso incorreto destes medicamentos, demonstrando que os mesmos não devem ser usados em excesso e que não resolverão todas as patologias. A má utilização de antibióticos pode levar à formação

de estirpes resistentes de bactérias, assim como diminuir a sua eficácia terapêutica, sendo imprescindível a prescrição pelo médico e o cumprimento do tempo de tratamento. Assim, o aconselhamento neste caso clínico passou pelo encaminhamento da utente para o médico, sendo o papel do farmacêutico fazê-lo quando a situação não pode ser resolvida na farmácia, ou seja, na necessidade de prescrição médica.

Para além disto, também faz parte do papel farmacêutico promover a qualidade de vida do utente e a prevenção de patologias. Deste modo, recorrendo a conhecimentos das áreas de fitoterapia e plantas medicinais, foi aconselhado ao doente uma tisana para as vias urinárias de arando vermelho e hibisco, que possui como mecanismo de ação a inibição da aderência microbiana e propriedades antioxidantes, constituindo um agente de prevenção para infeções futuras.

Adicionalmente, foram referidas algumas medidas não farmacológicas que a utente poderá seguir de modo a prevenir infeções urinárias, como a hidratação adequada, higienização adequada da zona genital, uso preferencial de roupa íntima de algodão e alimentação saudável.

## **Considerações Finais**

O estágio em farmácia comunitária foi, sem dúvida, uma experiência enriquecedora, que me permitiu não só consolidar conhecimentos prévios como adquirir novos, constituindo um elemento-chave para a conclusão da minha formação enquanto profissional de saúde.


Embora não a tivesse como minha primeira opção profissional, foi gratificante poder ter contacto com a realidade diária de um farmacêutico comunitário, entender a responsabilidade profissional e a confiança, rigor e excelência que são esperadas pela população e que devem reger a profissão. Além disso, esta apresenta uma imprevisibilidade muito notável, exigindo do farmacêutico a constante adaptação do seu discurso ao tipo de utente e um constante espírito crítico. Após observar a complexidade e diversidade de tarefas que esta profissão abrange, sinto que a mesma, muitas vezes, não recebe o reconhecimento que merece.

Por fim, gostaria de endereçar aos farmacêuticos com quem contactei o meu agradecimento, pelo privilégio que foi trabalhar e aprender com toda a equipa da FF. Particularmente, agradeço por todo o apoio, carinho e ensinamentos que me deram ao longo destes quatro meses. Considero que estes profissionais moldaram a minha visão da prática farmacêutica, tornando-a aos meus olhos uma profissão de grande nobreza e qualidade.

## Referências Bibliográficas

1. DAC TEOLI, TERRENCE SANVICTORES, Jason An - **StatPearls - SWOT Analysis**  
Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537302/>
2. GRUPO DE BOAS PRÁTICAS DE FARMÁCIA; GRUPO DO GUINCHO - Linhas de Orientação - Indicação Farmacêutica. **Ordem dos Farmacêuticos**. 2006) 4.
3. MINISTÉRIO DA SAÚDE - Portaria nº 594/2004, 2004-06-02. **Legislação Farmacêutica Compilada**. 129:2004) 3441–5.
4. INFARMED - Decreto-Lei n.º 176 de 30 de Agosto de 2006. **Diário da República**. 2006) 1–250.
5. KAIZEN INSTITUTE - **O que é o KAIZEN** Disponível em: <https://pt.kaizen.com/o-que-e-kaizen>
6. DIÁRIO DA REPÚBLICA, 2.ª Série - Diário da República: 2 série, nº 244 (2021) - Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos Regulamento n. 1015/2021. **Diário da República**. 2021) 143–159.
7. INFARMED - Decreto-Lei nº 134/2005, de 16 Agosto. 2007).
8. INFARMED - Resumo das características do medicamento - Gino-canesten. **Angewandte Chemie International Edition**, 6(11), 951–952. Mi (1967) 5–24.
9. INFARMED - Protocolo de Dispensa Exclusiva em Farmácia (EF) - Fenticonazol 600mg. 3:2 (2021) 6.
10. INFARMED - Resumo das características do medicamento - SEMONIC. 2019) 9–25.

## Anexos

 **CHUC** Serviço de Imuno-Alergologia  
CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA HUC tf: 239.400400-14826/11844

**ALERGIA A FÁRMACOS**

Sr.(a) \_\_\_\_\_

Diagnóstico: ALERGIA à Penicilina; Ofloxacina;

NÃO ADMINISTRAR: netilprednisolona

AINES

ANTIBIÓTICOS β Lactâmicos / aminopenicilinas

Outros Quinolonas; corticóides

PODE SER PRESCRITO: Deplatacorte; outras  
classes de antibióticos

Coimbra 06/12/2021 Médico Darta Pires Alves

**Figura 2:** Cartão de Alergias

## **Capítulo II**

### **Relatório de Estágio em Assuntos Regulamentares**

*BasePoint Consulting Services*



Estágio sob orientação do Dr. David Dias Costa

## **Abreviaturas**

**CIR** – *Cosmetic Ingredient Review*

**CLP** – *Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos*

**CPNP** – *Cosmetic Products Notification Portal*

**DGAV** – *Direção-Geral da Alimentação e Veterinária*

**EC** – *Estágio Curricular*

**ECHA** – *European Chemicals Agency*

**INFARMED** – *Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde*

**MICF** – *Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas*

**PIF** – *Ficheiro de informações do produto, Product Information Files*

**REACH** – *Registo, Avaliação e Autorização de Substâncias Químicas, Registration, Evaluation and Authorization of Chemical Substances*

**SCCS** – *Scientific Committee On Consumer Safety*

**SRCT** – *Sistema de Gestão de Receitas e Cobrança de Taxas*

**SWOT** – *Strenghts (Forças), Weaknesses (Fraquezas), Opportunities (Oportunidades) e Threats (Ameaças)*

**UE** – *União Europeia*



## **Introdução**

No âmbito da unidade curricular “Estágio Curricular” (EC), o plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) possibilita aos alunos realizar, para além do estágio obrigatório em farmácia comunitária, um segundo estágio numa área à sua escolha. Sendo que a área farmacêutica apresenta um vasto espectro de atuação e que muitas destas áreas não são completamente exploradas ao longo do plano de estudos do MICF, esta é uma oportunidade imprescindível de complementar este ensino. Neste sentido, decidi realizar estágio na área de assuntos regulamentares na empresa *BasePoint Consulting Services*, sediada em Coimbra, no período de 3 de maio de 2023 a 28 de julho de 2023, perfazendo o total de 420 horas, sob a orientação do Dr. David Costa, assim como de toda a equipa.

Segundo a Ordem dos Farmacêuticos, a atividade dos profissionais na área dos assuntos regulamentares é “fundamental nos processos de desenvolvimento, registo, acesso ao mercado, informação e apoio aos profissionais de saúde, bem como na monitorização da utilização dos medicamentos e dispositivos médicos”<sup>1</sup>. Deste modo, optei por esta escolha de estágio com o intuito de aprofundar os meus conhecimentos acerca do mercado farmacêutico, assim como do papel do farmacêutico nesta área.

Posto isto, este relatório é exposto na forma de uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats*) com vista à descrição crítica do EC realizado, expondo os seus pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças.

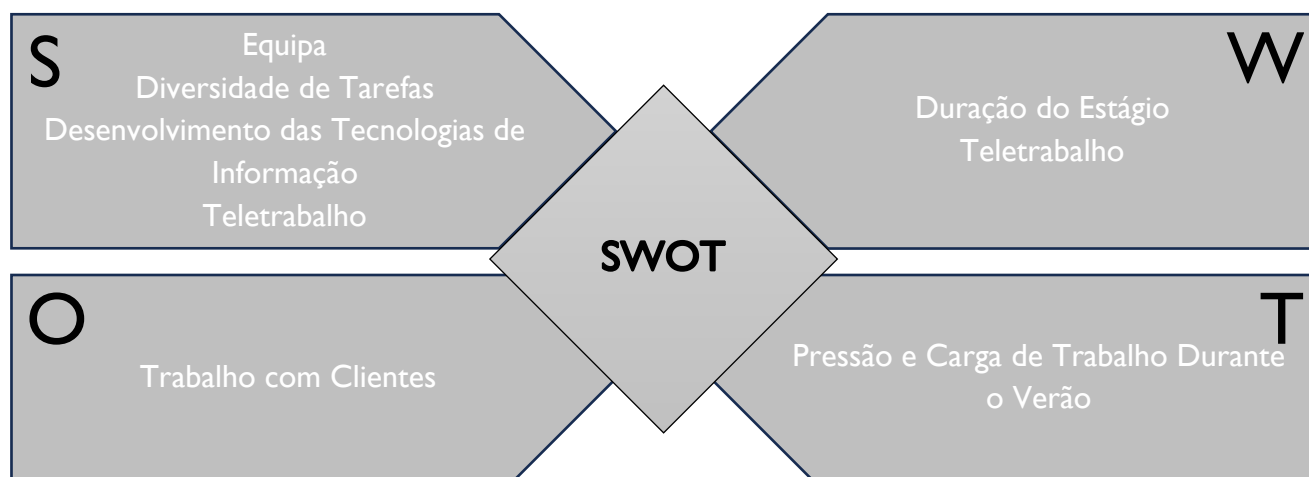
### **I BasePoint Consulting Services**

A BasePoint é uma empresa que fornece serviços de consultoria na área dos biocidas, suplementos alimentares, dispositivos médicos e produtos de cosmética, no regulamento *Registration, Evaluation and Authorization of Chemical Substances* (REACH) e no regulamento *Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos* (CLP). Anteriormente sediada no Edifício Fernão de Magalhães em Coimbra, evoluiu para uma empresa inteiramente em trabalho remoto, localizada em diversas zonas do país. Foi fundada em 2015 e conta com mais de 250 clientes em mais de 30 países diferentes, maioritariamente, mas não exclusivamente, na Europa, prestando serviços de apoio na importação e exportação de produtos. É composta por uma equipa multidisciplinar de 4 pessoas com formações diversas, entre farmacêuticos, biólogos e juristas.

Mais detalhadamente, a empresa realiza uma vasta quantidade de serviços dentro de várias áreas. A título de exemplo, na área de dispositivos médicos é possível, para além do registo dos mesmos, obter assistência na notificação de início de atividade, no portal do INFARMED; no registo na plataforma Sistema de Gestão de Receitas e Cobrança de Taxas (SRCT); com a documentação técnica; no cumprimento dos requisitos de rotulagem e ainda na implementação e manutenção do sistema de qualidade. Já ao nível dos produtos cosméticos, para além da elaboração do ficheiro de informação sobre o produto (*Product Information Files – PIF*), é possível solicitar apoio à BasePoint para a escrita do relatório de avaliação de segurança; para o serviço de técnico responsável; para processos de importação; para a avaliação de rotulagem; para o registo nas plataformas do INFARMED; nos estudos de estabilidade acelerada, *challenge-test* e estudos de eficácia e, assim como indicado para os dispositivos médicos, para a elaboração e manutenção do sistema de qualidade. Por fim, em relação aos suplementos alimentares, para além da avaliação de rotulagem, a empresa presta o serviço de mandatário na UE; de notificação dos mesmos; de apoio nos processos de importação; de revisão de fórmula e de apoio no que respeita à publicidade e às alegações acerca destes produtos.

## **2 Análise SWOT**

A análise SWOT é uma ferramenta de análise com o intuito de identificar os pontos fortes (*Strengths*) e fracos (*Weaknesses*) do elemento em análise, relativos à sua avaliação interna, e as oportunidades (*Opportunities*) e ameaças (*Threats*) do meio externo que lhe é envolvente. Assim, tem como objetivo a identificação dos aspetos próprios do objeto de análise e das particularidades do meio em que este se insere que podem determinar o seu sucesso<sup>2</sup>. Posto isto, na Figura 3 encontra-se um resumo dos pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças deste estágio.



**Figura 3:** Análise SWOT

## 2.1 Pontos Fortes

### 2.1.1 Equipa

Como mencionado anteriormente, a equipa da *BasePoint* é pequena, sendo constituída por apenas 4 pessoas. No entanto, trata-se de um grupo jovem, dinâmico e com grande espírito de união. Por eles, fui extremamente bem recebida e sempre me senti integrada, o que facilitou o esclarecimento de quaisquer dúvidas que surgissem ao longo do estágio.

Todos os membros da *BasePoint* apresentam uma mentalidade aberta a mudanças, como é evidente pela sua transição para um modo de trabalho exclusivamente remoto, o que desde cedo me deixou confortável em expressar ideias, por me identificar com esta mentalidade. Neste contexto, considero importante salientar o respeito que a equipa apresenta para com o horário de estágio/trabalho, não sendo expectável trabalhar fora do horário, ou prolongar o mesmo, contrariamente ao que é observado noutras áreas do ramo farmacêutico.

Para além dos aspetos já mencionados, o facto de se tratar de uma equipa jovem deu também origem a um ambiente de entreaajuda perante a realidade de um estudante na fase de formação em que me encontro, uma vez que permitiu maior contacto com pessoas recém-formadas e com o contexto de entrada no mercado de trabalho.

Todos estes fatores fazem com que considere a equipa com que tive a oportunidade de trabalhar um dos pontos fortes do meu estágio.

## 2.1.2 Diversidade de Tarefas

Ao longo deste estágio realizei diversas tarefas, em diferentes áreas, sendo que cada novo trabalho era acompanhado de uma formação interna realizada por parte dos colaboradores da empresa, o que facilitou a realização do que me era pedido.

Inicialmente, foi-me dada formação relativa a suplementos alimentares, mais especificamente à sua definição e uso e à avaliação da conformidade da rotulagem. Esta avaliação consiste na análise minuciosa de rótulos de suplementos alimentares, tendo em consideração as alegações de saúde permitidas na União Europeia e os ingredientes que constituem a sua formulação. Baseia-se em normas e regulamentos específicos, salientando-se o Regulamento (UE) N.º 1169/2011.

De seguida, foi introduzida a área dos produtos cosméticos, acompanhada, de igual modo, por várias formações relativas à definição, uso, cosmetovigilância, avaliação da conformidade da rotulagem e importação e exportação destes produtos. Neste caso, foi utilizado essencialmente o Regulamento (CE) N.º 1223/2009. Posteriormente, ainda no contexto dos produtos cosméticos, trabalhei na realização de análises toxicológicas, o que reforçou as minhas noções de objetividade e seletividade, devido à elevada informação que caracteriza estes estudos. Nesta fase, dei uso a várias bases de dados, incluindo a *European Chemicals Agency* (ECHA), o *Cosmetic Ingredient Review* (CIR), o *Scientific Committee On Consumer Safety* (SCCS) e a Direção-Geral da Alimentação e Veterinária (DGAV). Após realizar estas tarefas separadamente, criei diversos *dossier* de informação do produto (PIF), ou seja, um documento obrigatório para a introdução e comercialização de produtos cosméticos no mercado da União Europeia, que contém informações detalhadas sobre as matérias-primas, o produto acabado, os seus métodos de fabrico e os seus ensaios microbiológicos, de estabilidade e de segurança. A introdução do produto no mercado tem de ser sempre acompanhada da notificação no *Cosmetic Products Notification Portal* (CPNP), um portal online para o registo dos produtos cosméticos, sobre o qual obtive também formação.

Por fim, foram realizadas formações alusivas à conformidade de produtos com o regulamento REACH (o registo, avaliação e autorização de substâncias químicas), com o intuito de melhorar a proteção da saúde humana e do ambiente perante este tipo de produtos, assim como à conformidade com o regulamento CLP. É importante realçar que, quando necessário, realizei concomitantemente a estas tarefas diferentes pesquisas bibliográficas para clientes, relacionadas com dispositivos médicos, assim como outro tipo de trabalhos requisitados pela equipa.

### **2.1.3 Desenvolvimento das Tecnologias de Informação**

Tendo-se estabelecido como uma empresa de trabalho remoto, a *BasePoint* desenvolve todo o seu trabalho em formato digital, sendo imprescindível para o mesmo o conhecimento de *softwares* como o *Microsoft Office*®, nomeadamente do *Microsoft Word*® e do *Microsoft Excel*®. Tais programas apresentam uma vasta quantidade de ferramentas sobre as quais fui aprendendo ao longo destes meses, tornando-se uma mais-valia, tanto para o estágio, como para o meu futuro profissional. Para além do mais, é também de realçar a evolução que apresentei a nível da minha capacidade de pesquisa nas bases de dados da ECHA, CIR e SCCS, assim como no motor de pesquisa *PubMed*.

Embora já possuísse conhecimentos em todas estas áreas, observei relativamente às mesmas uma melhoria significativa no meu desempenho, alcançada com este estágio e que me acompanhará no meu futuro profissional.

### **2.1.4 Teletrabalho**

Uma das características que destaca esta empresa é o facto de terem adotado um modo de ação inteiramente digital e sustentável, pela adoção do trabalho remoto. O Código do Trabalho define teletrabalho como “a prestação de trabalho em regime de subordinação jurídica do trabalhador a um empregador, em local não determinado por este, através do recurso a tecnologias de informação e comunicação”<sup>3</sup>.

Este formato apresenta uma série de vantagens para os funcionários, incluindo uma maior autonomia na gestão do trabalho, flexibilidade horária e redução de *stress*, ao evitar viagens longas ou trânsito diariamente, e facilita a conciliação entre a vida profissional e a familiar. No entanto, apresenta também vantagens para a sociedade, igualmente pela redução de viagens diárias, com redução do trânsito e da poluição. No que diz respeito às empresas, estas obtêm também vantagens com este regime, pela redução de custos ao minimizar o espaço físico, assim como pelo aumento dos níveis de produtividade.

Desta forma, o meu estágio decorreu totalmente em regime de teletrabalho, o que resultou num sentimento de grande autonomia, responsabilidade e confiança. Permitiu-me manter-me no meu espaço, reduzindo as deslocações que tive de realizar, e facilitando logisticamente todo o estágio. Assim, considerei importante ter contacto com este modelo de trabalho que cada vez mais se torna uma realidade de muitas empresas, considerando-o um experiência enriquecedora que categorizei como um ponto forte.

## **2.2 Pontos Fracos**

### **2.2.1 Duração do Estágio**

Um dos pontos fracos deste estágio é, sem dúvida, a duração do mesmo. Visto que o estágio possui apenas a duração de 3 meses e a empresa apresenta uma grande variedade de áreas de atuação, o meu estágio caracterizou-se maioritariamente pelo trabalho com produtos de cosmética e suplementos alimentares, não tendo muito contato com as restantes vertentes da *BasePoint*, como produtos biocidas e dispositivos médicos.

No entanto, tentei ao máximo aproveitar todo o conhecimento transmitido pela equipa sobre os diferentes contextos em que trabalha, desenvolver competências na área regulamentar e mais profundamente entender o papel do farmacêutico na mesma.

### **2.2.2 Teletrabalho**

Apesar das variadas vantagens que o regime em teletrabalho detém, discutidas no ponto 2.1.4, senti também que o mesmo foi acompanhado de algumas desvantagens. Em primeiro lugar, considero que, por se tratar de um ambiente novo de trabalho, o facto de o primeiro contacto com a equipa decorrer em formato digital dificultou a criação de laços com a mesma. Adicionalmente, trabalhar todos os dias em casa revelou-se um processo fatigante e desmotivante, uma vez que sentir a envolvimento do ambiente de trabalho e estar rodeada de pessoas, nomeadamente de outros estagiários a realizar as mesmas tarefas, representaria um maior sentimento de pertença e conexão, acompanhado de maior motivação.

É de notar, no entanto, que apesar do receio que apresentava perante a facilidade que o teletrabalho representa em prolongar as horas de trabalho, não experienciei esta situação, uma vez que a mesma foi, desde início, contrariada pela equipa.

## **2.3 Oportunidades**

### **2.3.1 Trabalho com Clientes**

Após a familiarização com o trabalho desenvolvido na empresa e com os conhecimentos adquiridos ao longo do estágio, foi-me possibilitado desenvolver trabalho, maioritariamente, de pesquisa bibliográfica, para clientes reais e produtos reais. Após a realização destas tarefas, as mesmas foram revistas pela equipa da *BasePoint* antes do seu envio aos clientes, o que me permitiu detetar erros na elaboração dos materiais pedidos e corrigir os mesmos em tarefas posteriores.

Este contacto com situações verídicas concedeu-me um enorme sentido de responsabilidade e rigor, decorrentes do intuito de ser uma mais-valia para a equipa e de experienciar o compromisso que esta área detém com os clientes, pelo que o considero uma importante oportunidade.

## **2.4 Ameaças**

### **2.4.1 Pressão e Carga de Trabalho Durante do Verão**

A *BasePoint* é uma empresa que fornece serviços de consultoria nas diferentes áreas em que atua, a outras empresas e empresários. Desta forma, todo o trabalho que a empresa realiza é proveniente de terceiros, estando dependente dos mesmos. Assim, e visto que o meu estágio decorreu no segundo período de estágio, entre maio e julho, era enorme a quantidade de trabalho da equipa nestes meses, pela proximidade ao verão. Aliando-se a estas circunstâncias o facto de este ser um período de férias de elementos da própria equipa, foi conseqüentemente menor a atenção para com e o acompanhamento dos estagiários.

É de notar, no entanto, que a equipa apresenta grande organização, devendo-se a situação descrita maioritariamente aos clientes que exigem a realização dos seus pedidos de trabalho com pouca antecedência. Precisamente pela grande capacidade de trabalho dos membros da empresa, não senti que o atingimento dos objetivos do meu estágio tenha sido prejudicado, no entanto foi notória a dificuldade acrescida que esta grande carga de trabalho representou, pelo que não poderia deixar de mencionar este ponto como uma ameaça ao meu estágio.

## **Considerações Finais**

O meu estágio curricular na *BasePoint* envolveu o contacto com uma nova área de atuação farmacêutica, destacando-se como uma experiência de extrema riqueza e importância. Permitiu-me aplicar e interligar os conhecimentos adquiridos ao longo do meu percurso académico, bem como adquirir novos conhecimentos na área regulamentar, tendo sido por isso um período de intenso treino de novas capacidades e de aplicação da minha aprendizagem teórica ao dia-a-dia do profissional desta área.

Particularmente, esta experiência permitiu-me aperfeiçoar competências no domínio da pesquisa científica e tratamento de informação, entender os diferentes campos de atuação de um farmacêutico no âmbito regulamentar de diferentes produtos, desenvolver capacidades de trabalho com softwares de grande utilidade no mercado de trabalho atual, contactar com

uma equipa multidisciplinar com maior proximidade, pela sua idade jovem, ter a oportunidade de experienciar o regime de teletrabalho, e ainda confirmar a imensa abrangência da profissão farmacêutica no que respeita às suas possibilidades profissionais, pelo contacto com mais uma vertente da sua atuação.

Tendo em conta que a área regulamentar é uma das minhas áreas de interesse profissional, o contacto com esta empresa e com a sua equipa foi fulcral para a minha futura decisão de carreira enquanto farmacêutica. Assim, agradeço a toda a equipa da *BasePoint*, por todas as lições e conselhos que me ofereceram ao longo do estágio, assim como pelo elevado nível de empenho e rigor com que demonstraram que deve ser feito este trabalho. Foi um privilégio aprender e trabalhar com esta equipa, como um membro integrante da mesma.



## Referências Bibliográficas

1. PAULA, Ana; ALMEIDA, Mecheiro De; SILVESTRE, Martins – Regulamento (extrato) n.º 586/2018. **Diário da República, 2.ª série — N.º 168 — 31 de agosto de 2018**. 2018) 24450–24452.
2. DAC TEOLI, TERRENCE SANVICTORES, Jason An – **StatPearls – SWOT Analysis** Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537302/>
3. PROCURADORA-GERAL DO DISTRITO DE LISBOA - Código do trabalho. **Ministério Público**. 2017) 1–163.

## **Capítulo III**

### **Monografia**

# **“O Impacto da Microbiota Intestinal na Neurodegeneração”**

Orientada pela Professora Doutora Carla Maria dos Santos Nunes

## Lista de Abreviaturas

**5-HT** – 5-hidroxitriptamina ou serotonina

**ACTH** – Hormona adrenocorticotrópica, do inglês *adrenocorticotropic hormone*

**AGCC** – Ácidos gordos de cadeia curta

**ApoE** – Apolipoproteína E

**APP** – Proteína Precursora Amilóide, do inglês *Amyloid Precursor Protein*

**A $\beta$**  – Beta-amilóide, do inglês *Amyloid-beta*

**BHE** – Barreira Hematoencefálica

**CCK** – Colecistocinina, do inglês *Cholecystokinin*

**CEI** – Células epiteliais intestinais

**CHR** – Hormona de libertação de corticotropina, do inglês *Corticotropin-releasing hormone*

**COX-2** – Ciclo-oxigenase 2

**DA** – Doença de Alzheimer

**DP** – Doença de Parkinson

**EEC** – Células Enteroendócrinas, do inglês *Enteroendocrine cells*

**FOS** – Frutooligossacarídeos

**GABA** – Ácido gama-aminobutírico, do inglês *Gamma-aminobutyric acid*

**GI** – Gastrointestinal

**GLP-I** – Peptídeo I semelhante ao glucagon, do inglês *glucagon-like peptide-I*

**GOS** – Galactooligossacarídeos

**HPA** – Eixo Hipotálamo-Hipófise-Suprarrenal

**IFN- $\gamma$**  – Interferão gama, do inglês *Interferon-gamma*

**IL** – Interleucina

**LPS** – Lipopolissacarídeos

**MOS** – Mananoligossacarídeos

**NA** – Noradrenalina

**NFT** – Tranças neurofibrilares, do inglês *neurofibrillary tangles*

**NF-K $\beta$**  – Fator nuclear kappa B, do inglês *Nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells*

**PUFA** – Ácido gordo polinsaturado, do inglês *Polyunsaturated fatty acid*

**PYY** – Peptídeo YY

**SNA** – Sistema Nervoso Autónomo

**SNC** – Sistema Nervoso Central

**SNE** – Sistema Nervoso Entérico

**SNS** – Sistema Nervoso Simpático

**TGF- $\beta$**  – Fator de transformação do crescimento beta, do inglês *Transforming growth factor-beta*

**TGI** – Trato Gastrointestinal

**TLR** – Recetores do tipo *Toll-like*, do inglês *Toll-like receptors*

**TMF** – Transplante de microbiota fecal

**TNF- $\alpha$**  – Fator de Necrose Tumoral alfa, do inglês *Tumour Necrosis Factor alpha*

**VEGF- $\alpha$**  – Fator de crescimento do endotélio vascular, do inglês *Vascular endothelial growth factor*

## Resumo

As doenças neurodegenerativas, caracterizadas pela morte neuronal lenta e progressiva, são causas crescentes de mortalidade e morbidade em todo o mundo, particularmente na população idosa, constituindo, atualmente, um grave problema de saúde pública.

Apesar da intensa investigação que tem vindo a ser desenvolvida na área das doenças neurodegenerativas, a sua etiopatogenia permanece obscura. Além do mais, as terapias farmacológicas utilizadas focam-se apenas no tratamento sintomático, havendo necessidade de desenvolver novas estratégias terapêuticas que, efetivamente, previnam ou inibam a progressão da neurodegenerescência.

Há alguns anos, surgiu o conceito de eixo microbiota-intestino-cérebro, o qual evidencia a existência de uma comunicação bidirecional entre o trato gastrointestinal (TGI) e o Sistema Nervoso Central (SNC) ativamente modulada pela microbiota intestinal, conjunto de microrganismos que residem no intestino. Neste contexto, estudos recentes sugerem fortemente que uma disfunção do eixo microbiota-intestino-cérebro associada a disbiose intestinal, poderá desempenhar um importante papel no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas.

Posto isto, é crucial compreender mecanisticamente o potencial envolvimento da microbiota intestinal nas doenças neurodegenerativas, a fim de identificar novos alvos terapêuticos e, assim, desenvolver intervenções inovadoras que permitam mitigar tais doenças.

Esta revisão evidencia os conhecimentos existentes relativos ao impacto da microbiota intestinal na neurodegeneração subjacente às doenças neurodegenerativas, com particular foco na Doença de Parkinson (DP) e na Doença de Alzheimer (DA), o que é essencial para a compressão da etiologia e progressão das mesmas. É também discutido o potencial terapêutico que intervenções baseadas na modulação da microbiota podem ter nestas doenças.

**Palavras-chave:** Microbiota Intestinal, Neurodegeneração, Eixo microbiota-intestino-cérebro, Doenças Neurodegenerativas, Doença de Alzheimer, Doença de Parkinson.

## **Abstract**

Neurodegenerative diseases, characterised by slow and progressive neuronal death, are a growing cause of mortality and morbidity worldwide, particularly in the elderly population, and are currently a serious public health problem.

Despite the intense research that has been carried out into neurodegenerative diseases, their etiopathogenesis remains obscure. Furthermore, the current pharmacological therapies focus only on symptomatic relief. Thus, it is urgent to develop new therapeutic strategies that effectively prevent or inhibit the progression of neurodegeneration.

A few years ago, the concept of the microbiota-intestine-brain axis emerged, which highlights the existence of a bidirectional communication between the gastrointestinal tract and the Central Nervous System actively modulated by the intestinal microbiota, a set of microorganisms that reside in the intestine. In this context, recent studies strongly suggest that a dysfunction of the microbiota-intestine-brain axis associated with intestinal dysbiosis may play an important role in the development of neurodegenerative diseases such as Parkinson's Disease (PD) and Alzheimer's Disease (AD).

That said, it is crucial to understand mechanistically the potential involvement of the gut microbiota in neurodegenerative diseases in order to identify new therapeutic targets and thus develop innovative interventions to mitigate such diseases.

This review highlights the existing knowledge regarding the impact of the intestinal microbiota on neurodegeneration underlying neurodegenerative diseases, with a particular focus on Parkinson's Disease e Alzheimer's Disease, which is essential for a better understanding of their aetiology and progression. It also discussed the therapeutic potential of interventions based on microbiota modulation in these diseases.

**Keywords:** Intestinal microbiota, Neurodegeneration, Microbiota-intestine-brain axis, Neurodegenerative diseases, Alzheimer's disease, Parkinson's disease.

## Introdução

O organismo humano é colonizado por um complexo conjunto de microrganismos, incluindo bactérias, archaea, fungos, protozoários e vírus,<sup>1,2</sup> os quais se encontram distribuídos, pela pele, trato gastrointestinal (TGI), mucosa bucal e mucosa vaginal.<sup>2,3</sup> A este conjunto de microrganismos que habita um determinado ambiente, dá-se o nome de microbiota. É importante notar que, frequentemente, na literatura, os termos microbiota e microbioma surgem erradamente como sinónimos, pois, microbioma refere-se não só aos microrganismos, mas também ao seu material genético e às condições ambientais circundantes.<sup>1,2</sup>

A microbiota intestinal de indivíduos adultos é constituída por cerca de 100 triliões de microrganismos, número que ultrapassa o número total de células do organismo humano. Adicionalmente, estima-se que o genoma da microbiota intestinal seja cerca de 150 vezes superior ao genoma humano<sup>4,5,6,7</sup>. Estes microrganismos e o hospedeiro coexistem numa relação mutualista, em que ambas as partes envolvidas saem beneficiadas. O hospedeiro, proporciona um ambiente protegido e rico em nutrientes, favorável ao crescimento e desenvolvimento da microbiota. A microbiota, por sua vez, está envolvida numa série de processos biológicos cruciais para o desenvolvimento e funcionamento não apenas do TGI, mas também de outros órgãos, nomeadamente do cérebro, o que é essencial para a manutenção da saúde do hospedeiro<sup>6</sup>.

Entre as várias funções da microbiota intestinal poder-se-á salientar a digestão de componentes alimentares não digeridos pelo hospedeiro, a síntese de inúmeras moléculas bioativas, com destaque para os ácidos gordos de cadeia curta (AGCC)<sup>8,9,10</sup>; a defesa contra microrganismos patogénicos<sup>2</sup>; e a promoção da integridade da barreira intestinal.<sup>5,11,6</sup> Além do mais, é de notar que a microbiota intestinal, através de diferentes mecanismos que serão abordados neste documento, tem, também, a capacidade de interagir com o sistema nervoso central (SNC), contribuindo para o normal funcionamento do mesmo<sup>5</sup>. Nas últimas décadas, esta interação tem sido amplamente estudada, e deu origem ao conceito de eixo microbiota-intestino-cérebro, um sistema de comunicação bidirecional entre o TGI e o SNC, ativamente modulado pela microbiota intestinal<sup>12</sup>. Neste contexto, várias evidências sugerem fortemente que uma alteração da composição da microbiota intestinal, designada por disbiose, resulta numa alteração desta comunicação dinâmica, e poderá desempenhar um importante papel no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas. Consequentemente, estratégias assentes na modulação da microbiota intestinal poderão vir a constituir intervenções terapêuticas capazes de eficazmente prevenir e/ou limitar a neurodegeneração que ocorre nestas doenças.

O objetivo principal desta monografia é discutir mecanisticamente o papel da microbiota intestinal na fisiopatologia de doenças neurodegenerativas, em particular na neurodegeneração associada à Doença de Alzheimer (DA) e à Doença de Parkinson (DP).

## **I Microbiota Intestinal no Ser Humano**

### **1.1 Composição da Microbiota Intestinal**

A microbiota intestinal do organismo humano é, maioritariamente, constituída por bactérias, as quais pertencem aos filos <sup>5,11</sup>, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria*, *Proteobacteria* e *Verrucomicrobia*, sendo os dois primeiros os mais abundantes <sup>2,6,3</sup>. O filo *Firmicutes* engloba diversos géneros bacterianos, nomeadamente, os géneros *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bacillus* e *Ruminococcus* e os géneros produtores do AGCC, *Eubacterium*, *Roseburia* e *Faecalibacterium*. Os géneros *Bacteroides* e *Provetella* são os géneros predominantes do filo *Bacteroidetes*. Os géneros *Bifidobacterium* e *Escherichia* pertencem aos filos *Actinobacteria* e *Proteobacteria*, respetivamente.

O conteúdo microbiano do TGI altera-se ao longo do seu comprimento, observando-se um aumento progressivo da diversidade e densidade bacteriana do estômago e duodeno para o cólon. A tensão de oxigénio, o pH, o trânsito gastrointestinal e a disponibilidade de nutrientes são alguns dos fatores que determinam esta variação da microbiota <sup>5</sup>. É de notar que a microbiota intestinal é altamente influenciada por diversos fatores, incluindo fatores intrínsecos como a genética do hospedeiro, e fatores ambientais, como a dieta, estilo de vida, stresse e medicação, entre outros, o que implica que cada indivíduo apresente uma composição microbiana do TGI única <sup>14</sup>. Efetivamente, cerca de 2/3 da microbiota intestinal são específicos de cada indivíduo <sup>11</sup>.

### **1.2 Desenvolvimento da Microbiota Intestinal ao Longo da Vida**

A maioria da colonização microbiana ocorre nos primeiros anos de vida, sendo altamente influenciada por diversos fatores, tais como o ambiente uterino, o tipo de parto (parto vaginal ou cesariana) e o tipo de aleitamento (leito materno ou leite de fórmula) <sup>15</sup>.

Durante muitos anos pensou-se que a placenta formava uma barreira estéril entre o feto e o trato urogenital materno, e que, portanto, a primeira colonização só ocorria no momento do parto. No entanto, estudos recentes vieram refutar esta hipótese, ao demonstrar a presença de microrganismos na placenta, líquido amniótico, cordão umbilical e no mecónio dos bebés <sup>15,5,6</sup>.



O tipo de parto é o fator que mais influencia a microbiota inicial da criança, uma vez que o intestino é colonizado pelas primeiras comunidades bacterianas que encontra. Assim, enquanto que no parto vaginal, o recém-nascido é colonizado com a microbiota vaginal materna, nomeadamente por bactérias dos géneros *Lactobacillus* e *Prevotella*, num parto por cesariana, os recém-nascidos recebem as primeiras bactérias, maioritariamente, a partir da pele materna e do meio ambiente, sendo os géneros *Staphylococcus*, *Corynebacterium* e *Propionibacterium* os mais abundantes<sup>15,11,6</sup>. Os recém-nascidos por cesariana apresentam, pois, uma microbiota intestinal menos rica e diversa do que a dos recém-nascidos por parto vaginal. A idade gestacional na altura do parto também influencia a microbiota intestinal, observando-se diferenças entre os neonatos a termo e prematuros. Estas diferenças têm sido atribuídas à administração de fórmulas estéreis e antibióticos a estes últimos<sup>16</sup>.

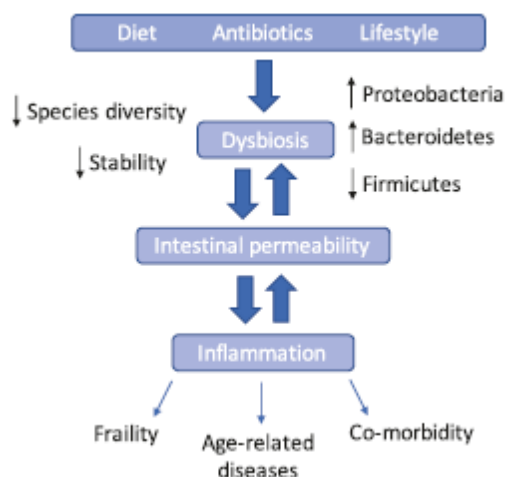
O tipo de aleitamento do recém-nascido, aleitamento materno ou fórmula infantil, é outro fator que condiciona profundamente a composição da sua microbiota intestinal. O leite materno é preferencial, dado ser rico em oligossacarídeos, os quais estimulam o crescimento de bactérias do género *Bifidobacterium*, envolvidas na proteção da mucosa intestinal e na modulação do sistema imune do intestino, nomeadamente através do estímulo de produção de imunoglobulina A<sup>15,5,17</sup>.

No primeiro ano de vida, a diversidade da microbiota aumenta e converge para um perfil microbiano distinto e único para cada criança. Por volta dos dois anos e meio, a composição, diversidade e as capacidades funcionais da microbiota assemelham-se à de um adulto. Até atingir a vida adulta, a composição da microbiota intestinal mantém-se relativamente estável e única para cada indivíduo<sup>15,6,17</sup>.

Por fim, nos idosos observa-se, em geral, uma perda significativa de diversidade e estabilidade da microbiota intestinal, nomeadamente, uma alteração do ratio *Firmicutes*: *Bacteroidetes*<sup>18</sup> e um declínio de bactérias do género *Bifidobacterium*, devido a diversos fatores, tais como, alterações fisiológicas, dieta menos variada, polimedicação e alteração do estilo de vida<sup>15,19,6</sup>.

### **1.3 Fatores que Influenciam a Microbiota Intestinal**

Embora, tal como foi referido anteriormente, a composição da microbiota na vida adulta seja relativamente estável, vários fatores podem influenciar a sua composição, sendo de destacar a dieta, o estilo de vida e o uso de antibióticos (Figura 4)<sup>19</sup>.



**Figura 4:** Fatores que influenciam a microbiota. Mudanças na dieta, no estilo de vida e o aumento do uso de antibióticos podem originar um estado de disbiose da microbiota, caracterizado pela redução da diversidade de espécies e por uma menor estabilidade. Esta situação causa uma desregulação da barreira intestinal, aumentando a sua permeabilidade que, por sua vez, origina um ambiente favorável à inflamação. A inflamação crônica está associada a um aumento de doenças relacionadas com a idade, fragilidade e comorbilidades. [Retirado de <sup>19</sup>]

### 1.3.1 Dieta

A dieta tem sido considerada um dos fatores que mais influencia a composição da microbiota intestinal <sup>6,15</sup>. Neste sub-capítulo serão explorados vários componentes da dieta e a sua influência na composição da microbiota intestinal e como podem afetar a saúde humana.

Os hidratos de carbono podem ser digeríveis ou não digeríveis, sendo que os últimos são as conhecidas fibras dietéticas. A microbiota intestinal fermenta estas fibras originando AGCC, cujas funções, resumidamente, estão envolvidas na homeostase do colón, estimulando a proliferação e diferenciação das células epiteliais, a produção de muco, a manutenção da barreira intestinal e a redução da inflamação <sup>8,20</sup>.

A ingestão de proteínas de origem animal está associada a uma diminuição da abundância de *Bifidobacterium* e da produção de AGCC. Já uma dieta rica em proteína vegetal está associada a um aumento da abundância de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, com consequente estimulação da produção de AGCC <sup>21</sup>.

Também, a quantidade e qualidade da gordura dietética pode influenciar a composição da microbiota intestinal. Os ácidos gordos polinsaturados (PUFAs), mais conhecidos por ácidos gordos essenciais, visto que são obtidos exclusivamente pela dieta, estão presentes em sementes de girassol, soja, frutos secos, azeite e peixes como o salmão e a cavala. Os PUFA mais relevantes são os ácidos gordos ómega-3 e ómega-6. Os ómega-3, especialmente encontrados em peixes, exercem um efeito positivo no restauro da composição da microbiota intestinal e aumentam a produção de compostos anti-inflamatórios, tendo sido demonstrado

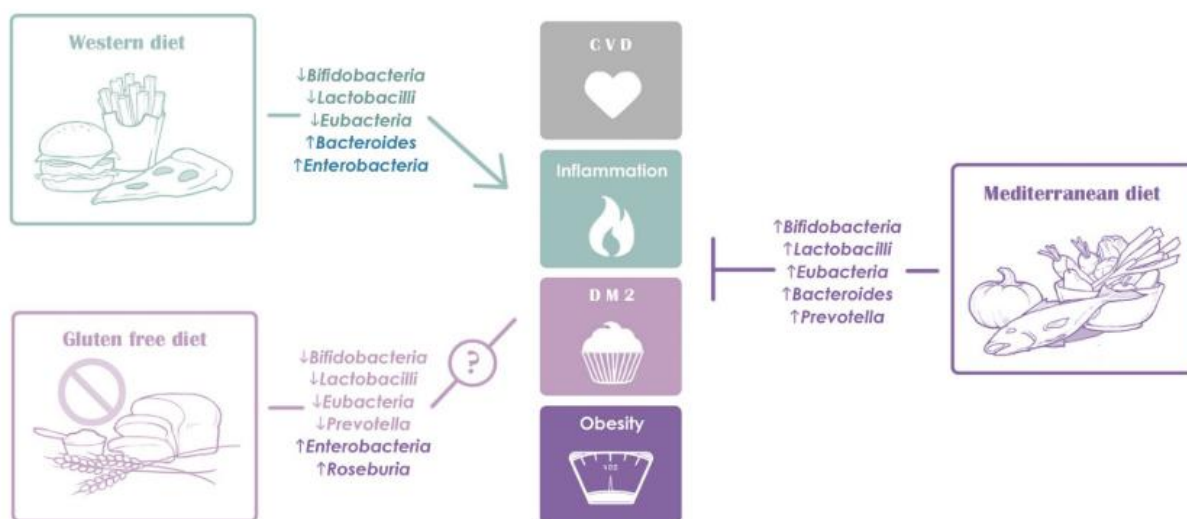
por KALIANNAN *et al.*, que estes são capazes de restaurar o ratio *Firmicutes:Bacteroidetes*. Em contraste, um excesso de ácidos gordos ómega-6, abundantes na dieta ocidental, parece estar associado a um aumento da permeabilidade da barreira intestinal <sup>22</sup>.

Também uma dieta com elevado consumo de sal foi associada a uma diminuição da abundância de *Lactobacillus*, com conseqüente aumento do ratio *Firmicutes:Bacteroidetes*, elevação de marcadores pró-inflamatórios e alteração da produção de AGCC, modificando a permeabilidade da barreira intestinal e a homeostase imune <sup>23</sup>.

Ainda, os micronutrientes possuem um papel importante em modular a microbiota intestinal. As vitaminas e minerais são responsáveis pela regulação do metabolismo energético, proliferação e diferenciação celular e funções imunes. A vitamina D apresenta um efeito positivo na modulação da microbiota intestinal ao aumentar a abundância de estirpes bacterianas potencialmente benéficas <sup>24</sup>.

Os polifenóis são metabolitos secundários das plantas, sendo abundantes em alguns alimentos, tais como frutas, vegetais, sementes, azeite e bebidas, como chá e vinho tinto. Estes compostos fenólicos parecem exercer um efeito *prebiotic-like*, estimulando o aumento da abundância de bactérias benéficas e/ou inibindo o crescimento de bactérias patogénicas <sup>25</sup>.

Por todas as razões supramencionadas, uma dieta mediterrânea (Figura 5), rica em frutas, vegetais, azeite, frutos secos, legumes e cereais integrais, tem sido associada à prevenção de doenças cardiovasculares, diabetes e uma melhoria do défice cognitivo. Esta dieta assenta no consumo regular de proteínas vegetais, PUFA, polifenóis e outros antioxidantes. Observando-se um aumento da abundância de *Bacteroidetes* e uma quantidade de AGCC aumentada, relacionada com o consumo de maiores quantidades de nutrientes à base de plantas <sup>26</sup>. Contrariamente, uma dieta ocidental (Figura 5), rica em gordura, proteína animal e açúcares refinados, induz a disbiose com conseqüentes efeitos adversos na mucosa intestinal e na inflamação <sup>26</sup>.



**Figura 5:** Efeito da dieta na microbiota e na saúde. Uma dieta ocidental, caracterizada pelo consumo de gordura e proteína animal, está associada ao aumento de espécies bacterianas patogênicas e uma diminuição de espécies benéficas, com consequente aumento de estados de inflamação e promoção de doenças crônicas. Já uma dieta mediterrânea, caracterizada pelo consumo de proteína derivada de plantas, PUFA, polifenóis e outros antioxidantes, resulta num aumento de estirpes bacterianas benéficas e diminuição de espécies patogênicas, resultando numa inibição da inflamação e prevenção de doenças crônicas. Dietas específicas, como a dieta isenta de glúten apresenta resultados contraditórios, sendo necessário mais investigação. [Retirado de <sup>27</sup>]

### 1.3.2 Estilo de Vida

O estilo de vida, incluindo, a coabitação com animais de estimação, a prática habitual de exercício físico, a ocupação profissional e o stresse, tem uma forte influência na composição da microbiota intestinal <sup>15,3,17</sup>.

A coabitação com animais de estimação e, particularmente, com cães, devido a partilha de estilos de vida e transferência da microbiota, tem sido associada a mudanças na composição da microbiota intestinal, observando-se que os animais de estimação e os seus tutores partilham bactérias intestinais comuns <sup>28</sup>. Interessantemente, existem evidências de que coabitar com um animal de estimação pode ser um fator de proteção contra a síndrome metabólica, devido à modulação da microbiota intestinal. <sup>28</sup>

Relativamente à prática de exercício físico, importa referir que enquanto o exercício abrupto produz múltiplos metabolitos e mediadores inflamatórios, a prática rotineira de exercício tem sido associada à diminuição da produção de citocinas inflamatórias, ou seja, à redução da inflamação, devido a mudanças subtis na composição da comunidade microbiana, sugerindo um ciclo regulatório entre a biologia do exercício e a imunidade do hospedeiro <sup>15,3</sup>.

A microbiota intestinal é, também, sensível ao stresse, sendo este definido como a resposta do organismo a pressões ambientais, podendo ser agudo ou crónico. Evidências recentes sugerem que o stresse pode induzir o aumento da permeabilidade intestinal, a qual, por sua vez, se associa a mudanças na composição da microbiota e no metabolismo microbiano

e a inflamação intestinal <sup>29</sup>. Por conseguinte, o hospedeiro apresenta maior suscetibilidade a doenças, e a resposta a uma infecção bacteriana pode ser influenciada <sup>15</sup>.

### **1.3.3 Antibióticos**

A redução da diversidade da microbiota é, tipicamente, causado por antibioterapia, e embora, normalmente, ocorra uma restauração da maioria da microbiota após cessação do tratamento, alguns membros da comunidade microbiana são perdidos indefinidamente <sup>15</sup>.

Muitos antibióticos possuem atividade de largo espectro, permitindo a sua utilização no tratamento de infecções provocadas por diferentes bactérias. Consequentemente, terapêuticas com estes antibióticos não afetam apenas os microrganismos patogénicos, mas também as comunidades microbianas do intestino, provocando um efeito negativo nas mesmas, nomeadamente uma diminuição da abundância de *Bifidobacterium* e *Bacteroidetes*. Este efeito é evidenciado em estudos recentes, que correlacionam o uso de antibióticos no início da vida com o desenvolvimento posterior de obesidade <sup>30</sup>, asma <sup>31</sup>, síndrome do intestino irritável <sup>32</sup> e outros transtornos.

Para além da microbiota intestinal não ser resiliente à repetida administração de antibióticos, também, foi demonstrada a promoção do desenvolvimento de estirpes bacterianas multirresistentes <sup>15,2,3</sup>.

## **1.4 Funções da Microbiota Intestinal**

A microbiota intestinal é atualmente considerada pela comunidade científica como um “novo órgão”, pois desempenha funções específicas e cruciais para a manutenção da saúde do seu hospedeiro <sup>4</sup>.

A microbiota intestinal influencia a absorção e metabolismo de nutrientes e é responsável pela síntese de inúmeras moléculas benéficas para o hospedeiro, que podem atuar diretamente no intestino ou que podem ser absorvidas e afetar diferentes órgãos, nomeadamente o cérebro. Os AGCC, os quais incluem o butirato, o acetato e o propionato, têm sido, dos metabolitos produzidos pela microbiota, os mais intensamente estudados nos últimos anos. Os AGCC resultam da fermentação de hidratos de carbono complexos que não são passíveis de ser digeridos pelo hospedeiro, como é o caso de fibras dietéticas vegetais. As bactérias pertencentes ao filo *Bacteroidetes* produzem elevados níveis de acetato e propionato, enquanto o filo *Firmicutes* está associado à produção de butirato <sup>33</sup>. Estes metabolitos, entre várias funções benéficas, servem de fonte de energia para os colonócitos, exibem propriedades anti-inflamatórias, aumentam a motilidade gastrointestinal e promovem a integridade da

barreira intestinal epitelial e da barreira hematoencefálica (BHE) <sup>8,9,10</sup>. A microbiota é, ainda, responsável pela biotransformação de ácidos biliares <sup>2</sup>, produção de metabolitos derivados de aminoácidos (ex. imidazole propionato) e vitaminas, nomeadamente vitamina K e vitaminas B hidrossolúveis <sup>34,35</sup>. Complementarmente, a microbiota participa no metabolismo de metais pesados, poluentes e fármacos <sup>1,2,5,6,11</sup>.

A microbiota intestinal desempenha, também, uma importante função de proteção do organismo contra potenciais bactérias patogénicas, através de mecanismos que incluem a competição por nutrientes, a produção de peptídeos antimicrobianos e a ativação da imunidade inata e adaptativa associada à ativação da resposta inflamatória mediada pelas células reguladoras T e a secreção de imunoglobulinas A <sup>2</sup>. Neste contexto, é ainda relevante referir a capacidade da microbiota intestinal em regular a função e integridade da barreira intestinal através da modulação da expressão e distribuição de importantes proteínas componentes das *tight junctions* <sup>36</sup>

Para além destas inúmeras funções, sabe-se, atualmente, que a microbiota intestinal desempenha um importante papel no desenvolvimento e função do Sistema Nervoso Central (SNC), assunto que será abordado no capítulo seguinte <sup>5</sup>.

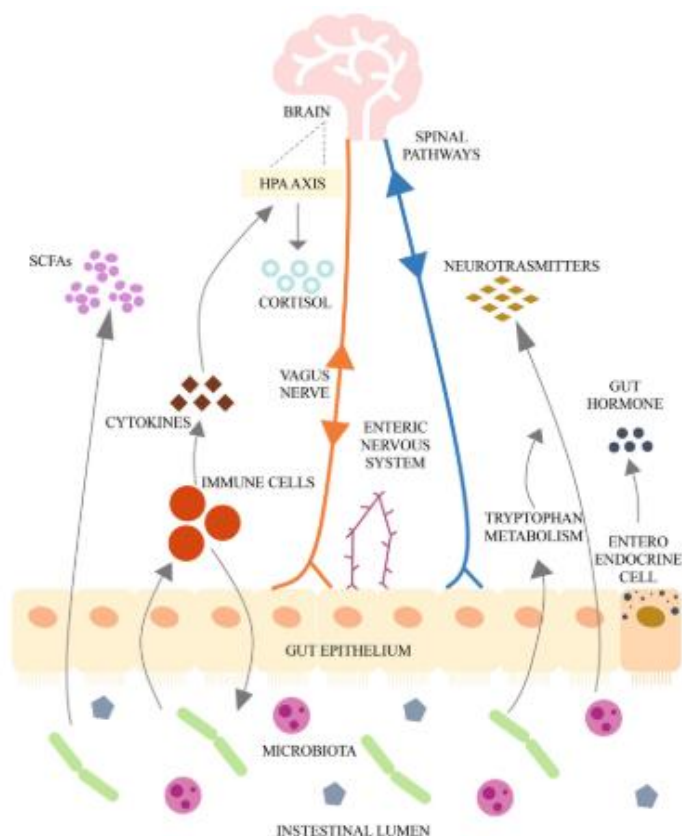
## **2 Eixo Microbiota-Intestino-Cérebro**

O eixo microbiota-intestino-cérebro é um sistema complexo de comunicação bidirecional, entre o trato gastrointestinal e o SNC, o qual é ativamente modulado pela microbiota intestinal <sup>2,37</sup>. A disbiose resulta numa alteração desta comunicação dinâmica, podendo levar a disfunção, quer ao nível do TGI, quer do SNC.

Neste contexto, estudos recentes sugerem fortemente que uma disfunção do eixo microbiota-intestino-cérebro associada a disbiose intestinal, poderá desempenhar um importante papel no desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como a Doença de Parkinson (DP) e a Doença de Alzheimer (DA) <sup>37</sup>.

### **2.1 Vias de Comunicação Microbiota-Intestino-Cérebro**

Embora os mecanismos envolvidos no eixo microbiota-intestino-cérebro não se encontrem ainda totalmente esclarecidos, é amplamente aceite que esta comunicação bidirecional assenta, essencialmente, em 4 vias, neuronal, endócrina, imunológica e metabólica, as quais interagem entre si de forma dinâmica (Figura 6). Estas 4 vias de comunicação, serão discutidas sucintamente de seguida.



**Figura 6:** Vias de comunicação entre a microbiota intestinal, o intestino e o cérebro. Estas vias incluem a via neuronal, a via endócrina, a via imunológica e a via metabólica. O nervo vago, componente da via neuronal, medeia a comunicação direta entre o cérebro e o intestino. O SNE faz, também, parte desta via. A via endócrina é constituída pelo eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal (HPA), que modula a libertação de cortisol pelas glândulas suprarrenais, e pode ser ativado por citocinas inflamatórias. Fazem ainda parte desta via as células enteroendócrinas (EECs) localizadas no epitélio intestinal, as quais secretam hormonas intestinais passíveis de atuar no cérebro. Várias citocinas anti e pró-inflamatórias estão envolvidas na via imunológica. Diversas moléculas sinalizadoras produzidas pela microbiota, tais como AGCC, aminoácidos (tiramina e triptofano) e neurotransmissores (GABA, dopamina, noradrenalina e serotonina) estão envolvidos na via metabólica, mas também nas outras vias supramencionadas.[Retirado de 38]

## 2.1.1 Via Neuronal

### Sistema Nervoso Entérico

O SNE é uma rede neuronal composta por cerca de 100 milhões de neurónios motores (eferentes), interneurónios e neurónios sensitivos (aférentes), que se estendem pelo TGI. Estes neurónios são autónomos e controlam a motilidade intestinal e o fluxo sanguíneo, trocando ainda informações em tempo real entre as células do epitélio intestinal, o sistema imune e o SNC <sup>9,13,12</sup>.

O papel do SNE na interação entre o intestino e o SNC, prende-se com o facto de o SNE pertencer a uma parte intrínseca do sistema nervoso autónomo (SNA). Neste contexto, foi demonstrado que neurónios aferentes específicos do SNE são capazes de propagar estímulos provocados pela microbiota intestinal até ao cérebro, utilizando o nervo vago e o sistema nervoso simpático (SNS), igualmente pertencentes ao SNA. Esta comunicação é

facilitada pela síntese e libertação de um número de moléculas, incluindo neurotransmissores, citocinas e metabolitos microbianos <sup>9,13,12</sup>.

### **Nervo Vago**

O nervo vago representa a ligação mais direta entre o intestino e o cérebro, sendo constituído por 80% de fibras aferentes, que transmitem sinais para o SNC, e 20% de fibras eferentes, que transmitem sinais do SNC para órgãos periféricos. As fibras aferentes do nervo vago estão distribuídas por todas as camadas da parede intestinal, mas não atravessam a camada intestinal, pelo que não contactam diretamente com a microbiota.

Consequentemente, em circunstâncias normais, os nervos aferentes são indiretamente ativados por metabolitos sintetizados pela microbiota intestinal e que difundem através do epitélio intestinal, ou por moléculas produzidas e libertadas pelas EECs <sup>9,12,39</sup>.

Como forma de esclarecer a relevância do nervo vago na comunicação intestino-cérebro, a realização de uma vagotomia, procedimento cirúrgico que remove parte deste nervo, é uma ferramenta útil usada em investigação. Em modelos animais, esta técnica sugere que estirpes bacterianas específicas usam o nervo vago para comunicar com o cérebro, alterando o desempenho comportamental destes animais. Particularmente, BRAVO e colaboradores, mostraram que a bactéria *Lactobacillus rhamnosus* reduziu significativamente comportamentos relacionados com ansiedade e depressão em murganhos sujeitos a stresse. De modo concordante, em modelos vagotomizados, não se verificou este efeito protetor, o que reforça a hipótese de o nervo vago ser um importante elemento do eixo microbiota-intestino-cérebro <sup>40</sup>.

## **2.1.2 Via Endócrina**

### **Células Enteroendócrinas (EEC)**

As EECs encontram-se distribuídas individualmente ao longo do epitélio intestinal nas criptas e vilosidades. Embora estas células representem apenas 1% das células epiteliais intestinais, constituem o maior sistema endócrino nos mamíferos e modulam importantes funções gastrointestinais (GI), como a motilidade intestinal, as secreções e a ingestão de alimentos.

As EECs podem detetar sinais provenientes de bactérias intestinas, como lipopolissacarídeos (LPS), através do reconhecimento pelos respetivos recetores *Toll-like* (TLR), e AGCC, através do reconhecimento por outros tipos de recetores, levando à



secreção de hormonas e citocinas, que podem, por sua vez, entrar na circulação, atravessar a BHE e atingir diretamente o SNC <sup>9,39</sup>.

Adicionalmente, as EECs podem interagir com as fibras eferentes do nervo vago, fundamentalmente, através da libertação de 5-HT e ativação dos recetores 5-HT<sub>3</sub> localizados nestas fibras, ou através da produção de hormonas intestinais anorexigénicas (colecistocinina (CKK), peptídeo I semelhante ao glucagon (GLP-1) e o peptídeo YY (PYY), e orexigénicas (grelina e orexina) <sup>9,39</sup>.

Deste modo, as EECs ao agirem como sensores do conteúdo do lúmen, monitorizando a disponibilidade de nutrientes, toxinas e microrganismos, representam células-chave na conexão entre a microbiota intestinal e o sistema nervoso <sup>12,13</sup>.

### **Eixo Hipotálamo-Hipófise-Suprarrenal**

O eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal (HPA) é um importante componente do eixo microbiota-intestino-cérebro e desempenha um importante papel na resposta ao stresse <sup>41</sup>.

Citocinas pro-inflamatórias intestinais e alguns componentes bacterianos, tais como o peptidoglicano e LPS podem, em determinadas condições, ativar o eixo HPA, induzindo a libertação da hormona de libertação de corticotropina (CRH) pelo hipotálamo, a qual, por sua vez, estimula a secreção da hormona adrenocorticotrópica (ACTH) pela hipófise. A ACTH, através da corrente sanguínea, atinge as glândulas suprarrenais, induzindo a libertação de glucocorticoides, nomeadamente de cortisol, a hormona chave da resposta ao stresse <sup>2,42</sup>.

Níveis elevados de cortisol podem causar mudanças na permeabilidade intestinal, na motilidade intestinal e na produção de muco, eventos que contribuem para alterações da composição da própria microbiota e, portanto, disbiose <sup>43</sup>. Além do mais, o cortisol em excesso tem um impacto significativo no hipocampo, estando associado a um risco aumentado de declínio cognitivo e de desenvolvimento de Doença de Alzheimer <sup>43</sup>.

### **2.1.3 Via Imunológica**

Um sistema imune intacto é crítico para manter o equilíbrio cuidadoso entre a manutenção de microrganismos benéficos para o hospedeiro e, simultaneamente, a sua proteção contra microrganismos patogénicos. Deste modo, o sistema imunológico tem um papel crucial na mediação da comunicação entre a microbiota intestinal, o SNE e o cérebro, nomeadamente através de citocinas e de componentes bacterianos como o LPS <sup>9</sup>.

A produção de citocinas, tais como as interleucinas 6 (IL-6) e 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e o Tumor de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), é estimulada através da ligação de LPS, a receptores TLRs, mais especificamente, TLR-4<sup>9,12,41</sup>.

O LPS pode ativar TLRs expressos em diferentes tipos de células do TGI, tais como células intestinais epiteliais, ECCs e macrófagos, provocando a ativação da cascata de sinalização do fator nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) e conseqüentemente uma elevada produção de citocinas inflamatórias com indução de permeabilidade da barreira intestinal, inflamação intestinal crônica e disbiose. Estas situações potenciam, não só, danos intestinais, mas também podem ter conseqüências a nível cerebral, dado que, as citocinas pró-inflamatórias podem aumentar a permeabilidade da BHE, permitindo a circulação das células imunes para o cérebro o que, por sua vez, leva à produção de mais mediadores pró-inflamatórios. Por outro lado, o LPS pode atingir o cérebro e interagir com TLRs presentes na microglia, induzindo neuroinflamação

No contexto das doenças neurodegenerativas, a mencionada ativação imune tem sido grandemente implicada na fisiopatologia de algumas formas de depressão e doenças neurodegenerativas, ampliando a relevância da via imunológica no funcionamento do eixo microbiota-intestino-cérebro<sup>9,41</sup>.

#### **2.1.4 Via Metabólica**

Uma outra via de comunicação da microbiota intestinal com o SNC envolve a produção, não apenas e, tal como já referido, de metabolitos como os AGCC, mas também de neurotransmissores como o ácido  $\gamma$ -butírico (GABA), dopamina, noradrenalina, serotonina e acetilcolina.

#### **AGCC**

Como referido anteriormente, os AGCC, resultam da fermentação de polissacarídeos indigeríveis, como é o caso de fibras dietéticas vegetais. Atuam localmente, através dos receptores presentes nas células epiteliais, EECs, e pela comunicação com o SNE, e podem ser libertados para a circulação sistémica, onde atingem células imunes e neuronais<sup>9,10,12</sup>.

Os AGCC exercem múltiplas funções a nível do TGI. Nomeadamente, atuam como fonte de energia para as células epiteliais intestinais (CEI) e regulam as suas funções e as das EECs, através da modulação da proliferação e diferenciação. Para além disso, melhoram a saúde intestinal através de uma série de efeitos locais, tais como a manutenção da integridade

da barreira intestinal, a produção de muco, a proteção contra a inflamação e tendo, ainda, impacto na motilidade GI <sup>44</sup>.

Os AGCC exercem, também, um importante papel na manutenção da integridade da BHE. Esta noção é suportada pelo facto de se observar que ratos *germ free* apresentam uma permeabilidade aumentada da BHE associada a uma reduzida expressão de proteínas das junções de oclusão, e que esta é revertida por colonização destes animais com bactérias produtoras de AGCC <sup>45</sup>. Além do mais, os AGCC podem atravessar a BHE e exercer os seus efeitos nas células neuronais e gliais. Os AGCC parecem ter a capacidade de modular o estado de ativação da microglia, induzindo um perfil de ativação anti-inflamatório e neuroprotetor. Neste contexto, foi observado que a suplementação de murganhos idosos com inulina, uma fibra dietética, aumentou significativamente os níveis de AGCC e reduziu a expressão de múltiplos genes inflamatórios na microglia <sup>8,46</sup>.

BARICHELLO *et al.* demonstraram que o AGCC, butirato, previne a perda de memória e restabelece a expressão de fatores neurotróficos, como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). Este fator está envolvido em várias vias moleculares responsáveis pela neurogénese, cognição e memória e previne a inflamação. Deste modo, ao modular a expressão do BDNF, o butirato apresenta efeitos neuroprotetores e diminui a inflamação, prevenindo o défice cognitivo <sup>47</sup>.

No entanto, são necessárias mais evidências para determinar quais as concentrações fisiologicamente relevantes de AGCC capazes de atingir o cérebro, dado o seu curto tempo de semivida (25 min a 3h). Estudos recentes, que investigam os efeitos da administração exógena de AGCC no cérebro e no comportamento, têm usado concentrações que em muito excedem a quantidade derivada da microbiota<sup>9</sup>.

### **Neurotransmissores**

Foi observado que diferentes bactérias intestinais conseguem sintetizar diferentes neurotransmissores. A título de exemplo, poder-se-á referir os géneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* que sintetizam GABA, os géneros *Escherichia* e *Bacillus*, produtores de noradrenalina, os géneros *Streptococcus*, *Escherichia* e *Enterococcus* produzem serotonina, o género *Bacillus* dopamina, e o género *Lactobacillus* acetilcolina. Adicionalmente, a espécie *Bifidobacterium infantis*, mostrou aumentar os níveis de triptofano plasmático, um precursor da serotonina <sup>2</sup>.

Estes neurotransmissores podem atuar no cérebro, modulando a atividade neuronal. No entanto, é pouco plausível que a maioria destes neurotransmissores consigam impactar diretamente a função cerebral, pois mesmo entrando na circulação sistémica, situação que não é garantida, não conseguem atravessar a BHE. Deste modo, o seu impacto na função cerebral ocorre indiretamente, através do SNE <sup>48</sup>.

O GABA é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso. No cérebro é sintetizado a partir do glutamato <sup>41</sup> e a presença de um transportador do GABA na BHE sugere fortemente que o GABA produzido pela microbiota intestinal poderá atingir o SNC <sup>41</sup>.

Também a serotonina tem um papel importante no SNC, sendo responsável pela modulação da diferenciação neuronal, assim como pelo crescimento e mielinização axonal e formação de sinapses. No entanto, encontra-se, maioritariamente, no intestino e não é capaz de atravessar a BHE, ao contrário do seu precursor, triptofano, que é transportado pela circulação sistémica e passa pela BHE <sup>49</sup>.

Adicionalmente, a dopamina e a noradrenalina (NA) são neurotransmissores pertencentes à família das catecolaminas, as quais, regulam funções cognitivas, o humor e a motilidade intestinal. Em particular, a dopamina é crucial no controlo de funções como a tomada de decisões, a motivação, a memória, atenção e recompensa e previne a perda de neurónios dopaminérgicos. Por fim, a acetilcolina interage com recetores expressos em macrófagos, inibindo a libertação de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- $\alpha$  <sup>50</sup>, modulando a inflamação.

Desta forma, a capacidade de produção de neurotransmissores pela microbiota intestinal é um aspeto importante no neurotropismo <sup>42</sup>.

### **3 Doenças Neurodegenerativas**

As doenças neurodegenerativas são uma causa comum e crescente de mortalidade e morbidade, particularmente nos idosos, constituindo, atualmente, um grave problema de saúde pública a nível global<sup>37</sup>. Em 2019, foi estimado que 55 milhões de pessoas viviam com demência, valor que, segundo a Organização Mundial de Saúde, é expectável aumentar até 139 milhões, em 2050 <sup>51</sup>.

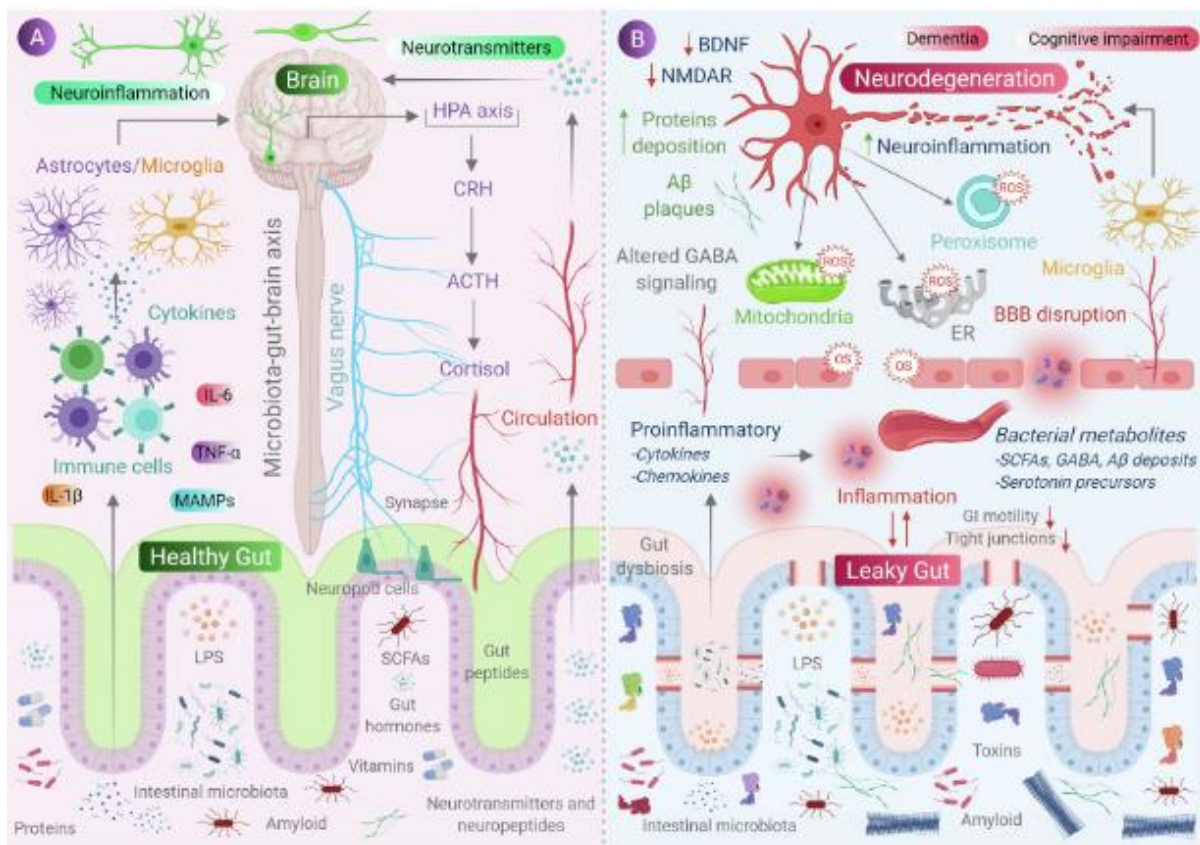
Embora cada doença neurodegenerativa apresente características próprias, de forma geral, todas elas se caracterizam por serem doenças crónicas que resultam da progressiva degeneração e morte de determinados neurónios.

Estas doenças apresentam uma evolução gradual, com progressivo agravamento da disfunção cognitiva, observado pela perda de autonomia em realizar tarefas diárias <sup>52,53</sup>. Tratam-se, pois, de doenças extremamente incapacitantes que impactam negativamente, não apenas na qualidade de vida do doente, como, também dos seus familiares. Para além disso, estas doenças têm, também, um grande impacto económico nos cuidadores (muitas vezes familiares) e na sociedade pelos custos associados à saúde do doente (medicação, emergências em hospital), custos associados ao cuidado social do doente (custos de alojamento, instituições de cuidado e suporte financeiro) e custos associados ao cuidador (visitas ao hospital, tempo consumido, falhas no trabalho) <sup>51,54,55</sup>.

Apesar da etiologia destas doenças permanecer desconhecida, evidências sugerem que poderão resultar de uma dinâmica e complexa combinação de fatores genéticos e ambientais <sup>56,57</sup>. Além do mais, o envelhecimento representa o principal fator de risco. É, ainda, importante notar que estas doenças não apresentam cura, possuindo um tratamento exclusivamente sintomatológico <sup>57,58</sup>.

Embora, historicamente, o estudo destas doenças se centre no SNC, o surgimento do conceito de eixo microbiota-intestino-cérebro aliado aos precoces sintomas GI que a maioria destes doentes apresenta, vieram direcionar o foco da pesquisa da etiologia destas doenças para o intestino <sup>57,58</sup>.

Neste contexto, existem, atualmente fortes evidências de que, efetivamente, a disbiose intestinal e a consequente desregulação do eixo microbiota-intestino-cérebro poderá desempenhar um importante papel na patogénese destas doenças, como é evidenciado na Figura 7. De seguida, abordar-se-á a influencia da microbiota intestinal nas duas doenças neurodegenerativas mais comuns, a doença de Parkinson e a doença de Alzheimer.



**Figura 7:** Influência da microbiota na neurodegeneração (A) Situação saudável, onde a microbiota comunica com o cérebro através das vias neuronal, endócrina, metabólica e imunológica do eixo microbiota-intestino-cérebro, promovendo a homeostase do indivíduo. (B) Situação de disbiose caracterizada por um aumento de mediadores pró-inflamatórios (citocinas, LPS) em comparação com mediadores anti-inflamatórios (AGCC), que resulta numa diminuição da motilidade intestinal, assim como, das junções de oclusão. Esta situação origina um aumento da permeabilidade da barreira intestinal e da BHE, com consequente aumento da resposta imunológica (microglia) e do stress oxidativo no SNC. Assim, origina-se um estado de neuroinflamação e de deposição de proteínas no cérebro que leva a um déficit cognitivo e demência. [Retirado de <sup>59</sup>]

### 3.1 Doença de Parkinson

A doença de Parkinson (DP) é reconhecida como a segunda doença neurodegenerativa mais comum, afetando cerca de 1 % da população acima dos 65 anos e cerca de 6 % da população com mais de 85 anos <sup>60,56</sup>. Neste contexto, é importante realçar que, segundo a Organização Mundial de Saúde, a morbidade e morte associadas à DP está a aumentar mais rapidamente do que o observado relativamente a qualquer outro distúrbio neurológico <sup>61</sup>. A maioria dos casos de DP são idiopáticos, sendo que apenas cerca de 5% dos casos apresentam uma componente genética <sup>56</sup>.

#### 3.1.1 Etiopatogenia

A DP é caracterizada, essencialmente, pela degeneração progressiva de neurónios dopaminérgicos na substância *nigra pars compacta*, e pela acumulação e agregação da proteína  $\alpha$ -sinucleína, formando inclusões intracitoplasmáticas nos neurónios dopaminérgicos designadas por corpos de Lewy <sup>12,37,38</sup>.

A degeneração de neurónios dopaminérgicos resulta numa diminuição dos níveis de dopamina no estriado e é responsável pelos sintomas motores característicos da DP, tais como tremor, instabilidade postural e da marcha, rigidez muscular e bradicinesia.

À semelhança do que se verifica nas restantes doenças neurodegenerativas, a causa da morte dos neurónios dopaminérgicos na DP não se encontra ainda esclarecida, havendo, contudo, fortes evidências de que o stresse oxidativo, a disfunção mitocondrial, a neuroinflamação e alterações estruturais e funcionais da  $\alpha$ -sinucleína, desempenham um papel crítico neste processo degenerativo. Além do mais, diversos estudos mostram consistentemente uma ativação exacerbada da microglia na substância *nigra* de doentes de Parkinson<sup>50</sup>, havendo fortes evidências do seu envolvimento nos mecanismos moleculares de neurodegeneração. Efetivamente, uma produção descontrolada de citocinas pró-inflamatórias e de espécies reativas de oxigénio e nitrogénio devido a uma ativação exacerbada da microglia poderá levar ao desenvolvimento de neuroinflamação, stresse oxidativo e disfunção mitocondrial, com um significativo impacto na função neuronal<sup>62,63,64</sup>.

O facto de cerca de 80% dos doentes de Parkinson, apresentarem importantes sintomas GI<sup>37</sup>, tais como obstipação, náuseas e desconforto abdominal, e estes, normalmente, precederem os sintomas motores em vários anos, sugere fortemente uma ligação entre o desenvolvimento da DP e o intestino<sup>11</sup>.

Assim, em 2003, surgiu a hipótese de Braak, que postulou pela primeira vez a possibilidade de a doença poder ter origem intestinal<sup>65</sup>. Segundo esta hipótese, a DP poderá ter origem na agregação da  $\alpha$ -sinucleína nas células do SNE, devido a uma resposta inflamatória promovida por diversos fatores que podem incluir, entre outros, disbiose intestinal, microrganismos patogénicos e toxinas. Biópsias ao cólon de doentes recentemente diagnosticados com DP, evidenciaram a acumulação de agregados de  $\alpha$ -sinucleína muito antes do aparecimento de sintomas motores<sup>66</sup>. A  $\alpha$ -sinucleína alterada parece comportar-se como uma proteína priónica, propagando-se através do nervo vago até ao SNC<sup>2,65,67</sup>. Vários estudos demonstram que formas tóxicas da  $\alpha$ -sinucleína têm capacidade de inibir a ATP sintase<sup>68</sup>, inibir o complexo I da cadeia respiratória mitocondrial<sup>64</sup>, um importante *hallmark* da DP, e ativar a microglia<sup>69</sup>, levando, assim, a disfunção mitocondrial, stresse oxidativo e neuroinflamação<sup>63</sup>.

É ainda importante referir que os doentes de Parkinson exibem precocemente disbiose intestinal e inflamação intestinal associada a um aumento da permeabilidade da barreira intestinal<sup>70</sup>. Neste contexto, SAMPSON e colaboradores, demonstraram, usando um modelo

animal da DP, que a microbiota intestinal é fundamental para que ocorra ativação da microglia e aparecimento de alterações motoras <sup>71</sup>.

A hiperpermeabilidade da barreira intestinal pode permitir a difusão de bactérias a partir do lúmen intestinal, levando ao desenvolvimento de uma resposta inflamatória que poderá contribuir para a acumulação e agregação da  $\alpha$ -sinucleína <sup>72,73</sup>. Os mediadores inflamatórios poderão também ter um importante impacto na BHE, promovendo um aumento da sua permeabilidade <sup>74</sup>, tal como descrito de seguida.

### 3.1.2 A Disbiose Intestinal na Doença de Parkinson

Tal como referido atrás, existem fortes evidências de que uma disfunção ao nível do intestino, associada a uma alteração da composição do microbiota intestinal, pode desempenhar um importante papel no desenvolvimento da DP. A caracterização da microbiota intestinal de doentes de Parkinson revelou uma disbiose significativa, associada a alterações na abundância de populações microbianas específicas<sup>2</sup>.

Entre as várias alterações observadas, poder-se-á destacar o aumento da abundância do género *Akkermansia*, que utiliza como fonte de carbono a mucina, levando à degradação da barreira mucosa do intestino e, conseqüentemente, a um aumento da permeabilidade intestinal e ao desenvolvimento de um estado inflamatório <sup>11,27</sup>. É, também, de salientar uma redução da abundância da família *Prevotellaceae*, bactérias Gram negativas responsáveis pela síntese de mucina, com conseqüente aumento da permeabilidade intestinal <sup>42,38</sup>.

A redução da abundância de *Roseburia*, *Faecalibacterium* e *Blautia* foi também detetada. Estes são géneros bacterianos produtores de AGCC (mais especificamente de butirato), responsáveis pela expressão de citocinas anti-inflamatórias, proteção da barreira intestinal e da BHE <sup>36</sup>, e prevenção da degeneração neuronal dopaminérgica <sup>75</sup>. Deste modo, o seu défice tem sido associado ao aumento da agregação de  $\alpha$ -sinucleína e à exacerbação da cascata de neuroinflamação <sup>11,42</sup>.

Tem sido, também, detetado um aumento da abundância da família *Enterobacteriaceae*, o qual tem sido correlacionado positivamente com a severidade da instabilidade postural e dificuldade na marcha <sup>42,38,59</sup> e um aumento da abundância do filo *Proteobacteria* e da família *Enterococcaceae*, produtores de mediadores pro-inflamatórios, como LPS<sup>38</sup>.



## 3.2 Doença de Alzheimer

A doença de Alzheimer (DA) é a forma mais comum de demência, representando a DA cerca de 60 a 80% destes casos. É uma doença neurodegenerativa que afeta as áreas cerebrais do córtex e do hipocampo, caracterizando-se pelo declínio progressivo da função cognitiva e alterações comportamentais, como a perda de memória e de mobilidade e a desorientação <sup>76</sup>.

A maioria dos casos de DA são esporádicos, não apresentando uma causa conhecida. No entanto, considera-se que esta doença deriva de uma complexa interação entre diversos fatores, incluindo fatores genéticos, como a presença do alelo  $\epsilon 4$  da apolipoproteína E (ApoE), e fatores ambientais <sup>12,42</sup>.

### 3.2.1 Etiopatogenia

A DA é caracterizada por agregados extracelulares de peptídeos beta-amilóide ( $A\beta$ ) e pela presença de tranças neurofibrilares (NFT) compostas por agregados intracelulares da proteína tau hiperfosforilada. Estas alterações proteicas parecem desempenhar um importante papel na disfunção sináptica e neurodegeneração que ocorrem nesta doença <sup>77,78</sup>.

Os peptídeos  $A\beta$  resultam da clivagem anormal da proteína precursora amilóide (APP), constituinte da membrana dos neurónios, pela enzima  $\beta$ -secretase. Os peptídeos  $A\beta$  40 e  $A\beta$  42, principais peptídeos formados nesta via, tendem a agregar-se, formando, inicialmente, oligómeros solúveis e, posteriormente, fibrilas insolúveis de  $A\beta$ . Estes oligómeros, por sua vez, difundem-se através do parênquima cerebral, podendo atuar como neurotoxinas. São responsáveis pela alteração da plasticidade neuronal, através da inibição da potenciação de longa duração e do estímulo da depressão de longa duração <sup>77,79</sup>; pelo desencadeamento da disfunção sináptica; pela morte neuronal; pelo comprometimento cognitivo e pela indução da disfunção mitocondrial, devido à inibição do complexo IV <sup>77,78,80,81</sup>. Já as fibrilas insolúveis unem-se, formando placas que atuam como reservatórios de dímeros de  $A\beta$ . Estes são libertados aquando da solubilização das placas, apresentando efeitos potencialmente neurotóxicos <sup>77,81</sup>.

A proteína tau encontra-se amplamente distribuída pelos neurónios em associação com microtúbulos, desempenhando um papel crítico na integridade do citoesqueleto e no transporte axonal. Modificações pós-tradução da proteína tau, nomeadamente a hiperfosforilação, conduzem à sua agregação e, conseqüentemente, a disfunção sináptica, o que parece estar relacionado com o desenvolvimento da DA. Vários estudos demonstram que

os peptídeos A $\beta$  podem, através de uma ativação anormal de várias cinases, causar a hiperfosforilação da tau e a subsequente polimerização em NFTs insolúveis<sup>12,42,82</sup>.

A acumulação destes marcadores no SNC resulta na ativação persistente da microglia e dos astrócitos causando neuroinflamação, que pode afetar os neurónios adjacentes. Evidências demonstram o enunciado, pela presença de níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias no SNC, como interleucinas IL-1 e IL-6, TNF- $\alpha$  e o fator de transformação do crescimento beta (TGF- $\beta$ )<sup>82,83,84</sup>.

É importante salientar que foi observado, em modelos animais de DA, uma desregulação da barreira epitelial intestinal e uma presença aumentada de citocinas pró-inflamatórias antes do desenvolvimento de agregados de A $\beta$ . Esta perda da função da barreira está associada com o aumento dos níveis das citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-9 e VEGF- $\alpha$ . Adicionalmente, foi evidenciada a presença de depósitos de A $\beta$  no intestino de modelos humanos. Estas evidências, em conjunto, sugerem que a disfunção intestinal acontece na DA e pode preceder o desenvolvimento da patologia no cérebro<sup>85</sup>.

### 3.2.2 A Disbiose Intestinal na Doença de Alzheimer

Vários estudos têm evidenciado o papel da microbiota intestinal e da disbiose nos processos de neuroinflamação observados na DA<sup>59,84</sup>. Em indivíduos que sofrem de DA, foi identificado um aumento da abundância de *Escherichia coli* e *Shigella*, bactérias associadas à produção de citocinas pró-inflamatórias e à libertação de LPS. Este é, por sua vez, responsável pela indução de inflamação e consegue atravessar a BHE e a barreira intestinal, devido à danificação e permeabilidade aumentadas destas, consequência de situações de disbiose derivadas do envelhecimento e/ou doença<sup>7,38,59</sup>.

Adicionalmente, estes doentes apresentam uma diminuição da abundância de *Eubacterium rectale*, bactérias anti-inflamatórias responsáveis pela produção de AGCC, resultando na exacerbação do processo inflamatório e no aumento da permeabilidade da barreira intestinal e BHE<sup>15,8,9,38</sup>. De forma complementar, foi observada uma reduzida abundância de *Lactobacillus brevis* e *Bifidobacterium dentium*, espécies produtoras de GABA, com consequente disfunção do sistema gabaérgico. A diminuição da concentração de GABA no TGI correlaciona com um diminuição da concentração de GABA no SNC, contribuindo para o declínio cognitivo<sup>86</sup>. Por fim, foi observado que a infeção crónica por *Helicobacter pylori* em doentes com DA desencadeia a libertação de mediadores pró-inflamatórios e induz stress oxidativo, sendo associada a um nível de declínio cognitivo mais severo<sup>84</sup>. De igual modo, a

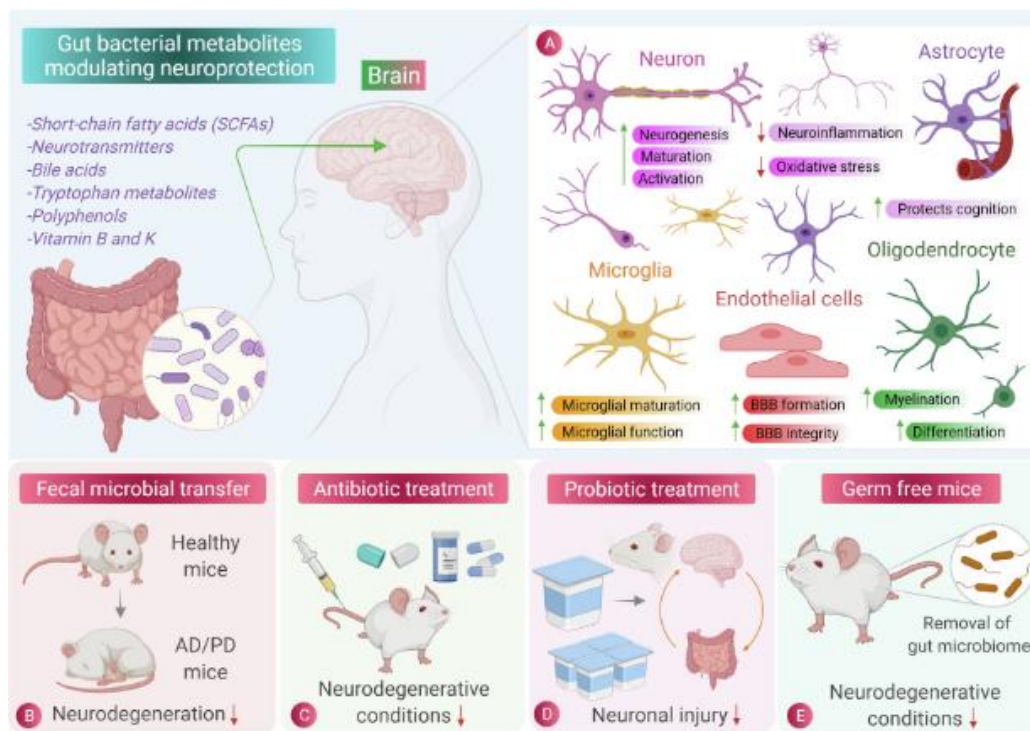
infecção por *C. pneumoniae* pode estimular a resposta de mediadores pró-inflamatórias e produzir diversas citocinas através da ativação da microglia e astrócitos, com consequente neurodegeneração, desempenhando um papel importante na neuroinflamação e na fisiopatologia da DA <sup>87</sup>.

Em suma, diversas alterações da microbiota intestinal têm sido associadas à DA, numa linha de investigação que cada vez mais realça a importância deste “novo órgão” na fisiopatologia da neurodegeneração <sup>7</sup>.

### **3.3 Potenciais Intervenções Terapêuticas Baseadas na Modulação da Microbiota Intestinal**

Apesar dos esforços desenvolvidos no sentido de aprimorar a terapêutica das doenças neurodegenerativas, as terapias farmacológicas disponíveis visam apenas a melhoria sintomatológica dos doentes, sem que seja possível, até ao dia de hoje, a sua cura. Esta realidade justifica o crescimento exponencial de estudos científicos focados na procura de alvos e intervenções terapêuticas que possam prevenir e/ ou limitar a neurodegeneração de forma eficaz. <sup>12,37</sup>.

Considerando a influência da microbiota intestinal no SNC e, concretamente, nas doenças neurodegenerativas, infere-se que qualquer elemento que perturbe a composição da referida microbiota é um possível interveniente na fisiopatologia destas doenças e, consequentemente, um potencial elemento de interesse no que respeita à sua terapêutica <sup>84</sup>. Neste capítulo serão expostas e discutidas potenciais intervenções terapêuticas nesta doenças, com impacto na microbiota intestinal, nomeadamente probióticos, prebióticos, simbióticos, transplante de microbiota fecal, antibióticos e dieta, resumidas na Figura 8 <sup>11</sup>.



**Figura 8:** Microbiota na neuroproteção. (A) Diversos metabolitos (AGCC, neurotransmissores, ácidos biliares) derivados da microbiota modulam a neuroproteção, reduzindo a neuroinflamação, o stresse oxidativo que, por sua vez, protege a cognição. (B) TMF, caracterizado pela transferência de microbiota intestinal de indivíduos saudáveis para indivíduos com situações patológicas, reduzindo a neurodegeneração. (C) Tratamento com antibióticos que demonstraram uma melhoria de situações neurodegenerativas. (D) Tratamento com probióticos evidenciou um grande potencial diminuir as situações de danos neurológicos. (E) Animais livres de germes demonstraram uma melhoria do estado de neurodegeneração, evidenciando o envolvimento que a microbiota apresenta nesta. [Retirado de 59]

### 3.3.1 Probióticos, Prebióticos e Simbióticos

#### Probióticos

Os probióticos são microrganismos vivos não-patogénicos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios para a saúde do hospedeiro<sup>12,42</sup>. Incluem, mais comumente, *Lactobacillus spp.* e *Bifidobacterium spp.*, e podem ser consumidos em alimentos (produtos lácteos fermentados) ou suplementos alimentares<sup>12</sup>.

O seu mecanismo de ação compreende a fortificação da barreira intestinal, através da diminuição da permeabilidade da mesma, a redução das respostas inflamatórias do intestino, a modulação do sistema imunitário, a inibição do crescimento de bactérias patogénicas e, por fim, a melhoria da composição e diversidade da microbiota intestinal<sup>5,12,38,41</sup>. Estas funções benéficas têm sido observadas em vários estudos, sendo de salientar os detalhados de seguida. No que respeita à DA, um estudo realizado por KOBAYASHI Y e colaboradores demonstrou que a administração de formulações contendo estirpes de *Bifidobacterium breve* a um modelo animal de AD pode prevenir a disfunção cognitiva induzida pelos peptídeos  $\beta$ -amilóide, através do aumento dos níveis plasmáticos de acetato<sup>88</sup>.

Um ensaio clínico realizado por AKBARI e colaboradores, demonstrou que a administração de leite probiótico contendo *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum* e *Lactobacillus fermentum*, durante 12 semanas, melhorou significativamente o déficit cognitivo em doentes com DA <sup>89</sup>.

Por fim, BONFILI *et al.* demonstraram efeitos positivos do tratamento oral com SLAB51 no desempenho comportamental e cognição de modelos animais com DA, sendo que SLAB51 é uma formulação que contém 9 estirpes de bactérias vivas, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* e *Lactobacillus brevis*<sup>90,91</sup>. É de notar que o tratamento com a formulação SLAB51 em modelos animais de DP demonstrou igualmente uma ação neuroprotetora, tendo sido reportada uma modulação da neuroinflamação, assim como um aumento do fator neurotrófico BDNF, o qual possui <sup>91</sup>.

GEORGESCU *et al.* demonstraram, também, que preparações com os probióticos *Lactobacillus acidophilus* e *Bifidobacterium infantis* resultaram na melhoria dos sintomas GI, característicos da DP, como a distensão e a dor abdominal<sup>92</sup>. Adicionalmente, a suplementação com estas bactérias promoveu, significativamente, a redução de citocinas pró-inflamatórias e o aumento de citocinas anti-inflamatórias em doentes com DP <sup>93</sup>.

Embora sejam evidentes o papel positivo e os resultados promissores que os probióticos podem ter como opção terapêutica nas doenças neurodegenerativas, ainda existem várias preocupações no que diz respeito ao impacto dos probióticos na microbiota intestinal. Destes, são exemplo a possibilidade de sobrecrescimento bacteriano no intestino, o risco de contaminação e a ubiquidade dos produtos como suplementos. Por conseguinte, são necessários mais estudos clínicos rigorosos para determinar a combinação de estirpes, a dosagem, a duração do tratamento, a eficácia e a segurança desta suplementação a longo prazo <sup>11,27</sup>.

### **Prebióticos**

Os prebióticos são definidos como um “ingrediente fermentado seletivamente que resulta em alterações específicas na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal, conferindo benefícios para a saúde do hospedeiro” <sup>94</sup>. Na sua maioria, são, hidratos de carbono complexos, que não são digeríveis pelo ser humano, sendo os galacto-oligossacarídeos (GOS) e os fruto-oligossacarídeos (FOS) os mais conhecidos <sup>11,12</sup>. Os polifenóis da dieta podem também exercer um efeito prebiótico <sup>95</sup>.

As fontes de prebióticos são as frutas, os vegetais, e cereais, especialmente a alcachofra, banana, espargos, alho e cebolas <sup>96</sup>. Os seus efeitos benéficos devem-se, essencialmente, à estimulação do crescimento e da atividade de bactérias benéficas no trato gastrointestinal, produção de AGCC – envolvidos na modulação da barreira intestinal, da BHE e das respostas imunitárias – e à redução do pH, que, em conjunto, proporcionam mecanismos de defesa contra microrganismos patogénicos e reduzem a inflamação <sup>11,12,96</sup>.

No que respeita à potencial ação dos prebióticos na DA, em 2021 LIU e colaboradores demonstraram que a administração do prebiótico mananoligossacarídeos (MOS) durante 8 semanas a murganhos 5XFAD, um modelo animal de DA, atenuou significativamente o défice cognitivo, a ansiedade, a acumulação dos peptídeos A $\beta$ , a neuroinflamação e o stresse oxidativo. Estes efeitos foram atribuídos à modulação da microbiota intestinal e ao aumento da produção de AGCC <sup>97</sup>. Também XIN *et al.* evidenciaram o efeito benéfico de oligossacarídeos derivados da *Morinda officinalis* num modelo animal de DA, murganhos transgênicos APP/PS1. Estes prebióticos diminuíram significativamente os níveis de peptídeos A $\beta$ , inibiram a morte neuronal e apresentaram um efeito positivo no défice cognitivo, através da modulação da microbiota intestinal <sup>98</sup>.

Em relação à DP, um ensaio clínico com a administração de prebióticos, durante 10 dias, a doentes com DP, evidenciou uma redução na abundância de bactérias pró-inflamatórias e um aumento da abundância das bactérias produtoras de AGCC, com consequente melhoria da inflamação. Adicionalmente, foi observado uma melhoria na severidade dos sintomas GI dos doentes com DP <sup>99</sup>.

Apesar dos resultados positivos, as evidências existentes são ainda incapazes de esclarecer quais os mecanismos fisiológicos envolvidos nos efeitos observados ao nível do SNC, não tendo sido possível até à data clarificar, por exemplo, quais os metabolitos e vias de sinalização envolvidos nesta interação. Estas lacunas associadas à falta de consenso no que respeita à duração de utilização, formulação e doses ideais destes potenciais agentes terapêuticos, tornam evidentes as limitações atuais na aplicabilidade clínica dos prebióticos na DA e na DP <sup>13,12</sup>.

### **Simbióticos**

Os simbióticos consistem numa combinação de probióticos e prebióticos, que atuam em sinergia, dado que os prebióticos favorecem a sobrevivência e o crescimento dos probióticos e, conseqüentemente, os seus efeitos benéficos <sup>12,96</sup>. Em subcapítulos anteriores, foram referidos os microrganismos probióticos e as substâncias prebióticas mais usadas. Neste

contexto, a combinação de bactérias dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* com FOS aparentam ser os produtos simbióticos mais populares <sup>96</sup>.

Relativamente à aplicação de simbióticos nas doenças neurodegenerativas, DENG *et al.* demonstraram que a administração oral de simbióticos, constituídos por *Bacillus natto*, *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, como probióticos, e inulina, como prebiótico, melhorou os défices de memória e reduziu a acumulação de A $\beta$  em modelos animais com sobreexpressão de APP. Adicionalmente, este tratamento conseguiu ainda aumentar a neurogênese e reduzir a resposta pró-inflamatória nestes modelos, através da redução do TNF- $\alpha$ , uma importante citocina inflamatória <sup>100</sup>.

Além disso, também BARICHELLA *et al.* exploraram os efeitos de simbióticos no sintoma não-motor mais comum em doentes com DP – a obstipação. A administração oral de leite fermentado contendo fibras prebióticas (FOS) e uma variedade de estirpes bacterianas probióticas (*Streptococcus salivarius subsp thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*, *Bifidobacterium breve* e *Bifidobacterium animalis subsp lactis*), proporcionou uma melhoria dos hábitos intestinais dos doentes com DP que sofriam de obstipação <sup>101</sup>.

Apesar das evidências supracitadas, o conhecimento sobre a associação de probióticos e prebióticos ainda é escasso, em comparação com o uso dos dois separadamente, sendo por isso necessária mais investigação em relação a esta intervenção terapêutica <sup>12,38</sup>.

### 3.3.2 Transplante de Microbiota Fecal

O transplante de microbiota fecal (TMF) é uma técnica de transplante do conteúdo fecal filtrado, de dadores saudáveis para doentes, de modo, a reverter a disbiose intestinal e restaurar a homeostase das populações microbianas do intestino do hospedeiro <sup>11,42</sup>. Este procedimento é realizado pela via gastrointestinal superior (endoscopia, sonda nasogástrica, nasojejunal ou nasoduodenal) ou pela via gastrointestinal inferior (colonoscopia, ou enema de retenção) <sup>102,103</sup>.

O TMF tem sido utilizado para tratar doenças GI, sendo de salientar o tratamento da infeção por *Clostridium difficile*, uma infeção hospitalar, resultante do uso prolongado de antibióticos. Apresenta uma taxa de cura de 90%, tanto na infeção recorrente como refratária, derivada do restabelecimento da microbiota saudável, após o TMF <sup>102,103</sup>.

Ao apresentar um elevado benefício terapêutico em distúrbios derivados do intestino, associados a disbiose intestinal, tem suscitado interesse como potencial intervenção terapêutica nas doenças neurodegenerativas <sup>11,42</sup>.

Deste modo, em 2019, SUN *et al.*, demonstraram que o TMF exerce efeitos neuroprotetores, em modelos animais com DA, com uma melhoria do déficit cognitivo, da acumulação A $\beta$ , disfunção sináptica e da neuroinflamação. Estes efeitos podem estar relacionados com a recuperação da microbiota intestinal saudável, através do aumento da abundância de *Bacteroidetes* e da diminuição da abundância de *Proteobacteria* e *Verrucomicrobia*, observadas após o TMF <sup>104</sup>.

É de salientar, também, o estudo realizado por HUANG *et al.*, num doente de 71 anos com DP, que sofria de obstipação intratável e tremores severos. Após TMF a partir de um individuo saudável de 26 anos, este doente apresentou uma melhoria de defecação e o quase desaparecimento dos tremores nas pernas, <sup>105</sup>.

Ainda que este procedimento apresente uma facilidade de execução, segurança, baixo custo e um enorme potencial benéfico na terapêutica das doenças neurodegenerativas, são necessários mais estudos para ser classificada como uma terapêutica padrão <sup>42,103</sup>.

### 3.3.3 Antibióticos

Os antibióticos são considerados por alguns autores como potenciais agentes farmacológicos de interesse no contexto das doenças neurodegenerativas. Tendo como principal objetivo a eliminação de estirpes bacterianas do hospedeiro humano, os antibióticos alteram a composição e a biodiversidade da microbiota intestinal, atrasando inclusivamente a colonização intestinal após terminado o seu uso <sup>84</sup>. Deste modo, o tratamento com antibióticos tanto pode ser prejudicial, pela destruição do equilíbrio microbiano do intestino, como benéfico para as doenças neurodegenerativas, ao reduzir a neuroinflamação derivada da disbiose <sup>84</sup>.

Vários são os estudos que têm evidenciado um efeito positivo no contexto das doenças neurodegenerativas. Assim, Este estudo é mais complexo e envolve *Lactobacillus YULUG et al.*, observaram que a administração de rifampicina a modelos animais com DA reduz os níveis cerebrais de A $\beta$  e de citocinas inflamatórias, sugerindo que este fármaco possa possuir, para além do seu efeito anti-infeccioso convencional, efeitos neuroprotetores <sup>106</sup>.

Além disso, em 2020, KOUTZOUNIS *et al.* estudaram a influência de antibióticos na DP, tendo administrado antibióticos de largo espectro a modelos animais da doença. Foi



observada uma redução de 90% da riqueza da microbiota intestinal, sendo que a abundância de *Firmicutes* diminuiu, enquanto a abundância de *Proteobacteria*, *Verrumicrobia*, *Bacteroidetes* e *Cyanobacteria* aumentou. No entanto, também foi evidenciado um alívio do déficit motor e dos danos preexistentes nos neurónios dopaminérgicos associada a uma diminuição de marcadores pró-inflamatórios, incluindo da ciclo-oxigenase 2 (COX-2), IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , que se encontravam aumentados. Este trabalho permitiu, assim, ilustrar o papel ambivalente dos antibióticos <sup>58</sup>.

Por fim, no que respeita ao papel dos antibióticos na gestão das doenças neurodegenerativas, é importante salientar o risco que se poderá correr mediante a utilização desta classe terapêutica, já que os seus potenciais benefícios competem com a preocupante possibilidade de desenvolvimento de resistências <sup>84</sup>.

### 3.3.4 Dieta

Uma dieta equilibrada, tal como já referido atrás, desempenha um papel crucial na modulação da composição da microbiota intestinal. Consequentemente, tem ganho interesse crescente como potencial estratégia terapêutica na prevenção e limitação da neurodegenerescência. <sup>11</sup>.

Até à data, existe uma extensa investigação que examina o papel de nutrientes e alimentos específicos no impacto das doenças neurodegenerativas. No entanto, nos últimos anos, o foco desta investigação direcionou-se para os padrões alimentares, tendo em conta as interações entre nutrientes e os seus possíveis efeitos sinérgicos <sup>107</sup>. Neste seguimento, foram realizados estudos que correlacionam a adoção da dieta *MIND* com a progressão das doenças neurodegenerativas <sup>107,108,109</sup>.

Em maior detalhe, a dieta *MIND* é uma dieta elaborada como intervenção para o atraso do desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, consistido na combinação entre a dieta mediterrânea e a dieta *DASH* (utilizada para controlo da hipertensão), mas destacando os componentes alimentares relacionados com a neuroprotecção. Assim, a *MIND* é caracterizada pelo consumo de legumes (em particular, legumes de folha verde), bagas, azeite extra-virgem, nozes, cereais integrais e fontes de proteína com baixo teor de gordura. Ao contrário de outras dietas, não apresenta um seguimento difícil nem restritivo, adquirindo efeitos positivos com mudanças mínimas. Em suma, os estudos relativos a esta dieta obtiveram resultados positivos, demonstrando uma melhoria do déficit cognitivo e um risco reduzido de desenvolvimento de DA <sup>107,108,109</sup>.

## **Conclusão e Perspetivas Futuras**

Atualmente, a etiopatogenia das doenças neurodegenerativas permanece obscura, havendo, contudo, evidências de que alterações estruturais e funcionais de proteínas específicas, o stresse oxidativo, a disfunção mitocondrial e a neuroinflamação são mecanismos moleculares que desempenham um papel crítico na neurodegeneração. Além do mais, as terapias farmacológicas utilizadas visam apenas minimizar a sintomatologia, sendo urgente o desenvolvimento de estratégias inovadoras capazes de prevenir e/ ou limitar a degeneração e morte neuronal.

Embora durante muitos anos, a investigação na área das doenças neurodegenerativas se tenha centrado exclusivamente no SNC, evidências recentes vieram sugerir que a disbiose intestinal e a consequente desregulação do eixo microbiota-intestino-cérebro poderá induzir e/ou agravar os mecanismos de neurodegeneração, desempenhando, assim, um importante papel na patogénese destas doenças.

Tal facto, veio abrir portas para a descoberta de novos alvos terapêuticos e desenvolvimento de estratégias para a cura ou prevenção destas doenças. Efetivamente, a investigação nesta área tem-se intensificado, havendo um elevado número de estudos que sugerem a modulação da microbiota intestinal, nomeadamente, através de probióticos, prebióticos, simbióticos, transplante da microbiota fecal, antibióticos e dieta, como uma estratégia terapêutica altamente promissora nas doenças neurodegenerativas. No entanto, são necessários mais estudos de segurança e eficácia para que estas estratégias possam ser consideradas opções terapêuticas.

É, pois, crucial aprofundar a investigação nesta área, de forma a obter um conhecimento mais profundo acerca da ligação entre a microbiota e o desenvolvimento ou agravamento de patologias neurológicas.

## Referências Bibliográficas

1. FAN, Yong; PEDERSEN, Oluf - Gut microbiota in human metabolic health and disease. **Nature reviews. Microbiology**. ISSN 1740-1534. 19:1 (2021) 55–71. doi: 10.1038/s41579-020-0433-9.
2. MIRAGLIA, Fabiana; COLLA, Emanuela - Microbiome, Parkinson's Disease and Molecular Mimicry. **Cells**. ISSN 2073-4409. 8:3 (2019) 222. doi: 10.3390/cells8030222.
3. GILBERT, Jack A. *et al.* - Current understanding of the human microbiome. **Nature Medicine**. ISSN 1078-8956. 24:4 (2018) 392–400. doi: 10.1038/nm.4517.
4. GUO, Cen *et al.* - Gut-brain axis: Focus on gut metabolites short-chain fatty acids. 10:6 (2022) 1754–1764. doi: 10.12998/wjcc.v10.i6.1754.
5. ADAK, Atanu; KHAN, Mojibur R. - An insight into gut microbiota and its functionalities. **Cellular and molecular life sciences : CMLS**. ISSN 1420-9071. 76:3 (2019) 473–493. doi: 10.1007/s00018-018-2943-4.
6. THURSBY, Elizabeth; JUGE, Nathalie - Introduction to the human gut microbiota. **Biochemical Journal**. ISSN 14708728. 474:11 (2017) 1823–1836. doi: 10.1042/BCJ20160510.
7. JIANG, Chunmei *et al.* - The Gut Microbiota and Alzheimer's Disease. **Journal of Alzheimer's Disease**. ISSN 18758908. 58:1 (2017) 1–15. doi: 10.3233/JAD-161141.
8. SILVA, Ygor Parladore; BERNARDI, Andressa; FROZZA, Rudimar Luiz - The Role of Short-Chain Fatty Acids From Gut Microbiota in Gut-Brain Communication. 11:January (2020) 1–14. doi: 10.3389/fendo.2020.00025.
9. MARGOLIS, Kara G.; CRYAN, John F.; MAYER, Emeran A. - The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. **Gastroenterology**. ISSN 00165085. 160:5 (2021) 1486–1501. doi: 10.1053/j.gastro.2020.10.066.
10. HILL, Amaryllis E.; WADE-MARTINS, Richard; BURNET, Philip W. J. - What Is Our Understanding of the Influence of Gut Microbiota on the Pathophysiology of Parkinson's Disease? **Frontiers in Neuroscience**. ISSN 1662-453X. 15:August (2021) 1–9. doi: 10.3389/fnins.2021.708587.
11. GUO, Tong; CHEN, Li - Gut microbiota and inflammation in Parkinson's disease: Pathogenetic and therapeutic insights. **European Journal of Inflammation**. ISSN 1721-727X. 20:2022) 1721727X2210837. doi: 10.1177/1721727X221083763.

12. GUBERT, Carolina; GASPAROTTO, Juciano; H. MORAIS, Livia - Convergent pathways of the gut microbiota–brain axis and neurodegenerative disorders. **Gastroenterology Report**. ISSN 2052-0034. 10:2022) 1–18. doi: 10.1093/gastro/goac017.
13. CRYAN, John F. *et al.* - The Microbiota-Gut-Brain Axis. **Physiological Reviews**. ISSN 0031-9333. 99:4 (2019) 1877–2013. doi: 10.1152/physrev.00018.2018.
14. LI, Junhua *et al.* - An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. **Nature Biotechnology**. ISSN 1087-0156. 32:8 (2014) 834–841. doi: 10.1038/nbt.2942.
15. CRESCI, Gail A.; BAWDEN, Emmy - Gut microbiome: What we do and don't know. **Nutrition in Clinical Practice**. ISSN 19412452. 30:6 (2015) 734–746. doi: 10.1177/0884533615609899.
16. CHERNIKOVA, Diana A. *et al.* - The premature infant gut microbiome during the first 6 weeks of life differs based on gestational maturity at birth. **Pediatric Research**. ISSN 0031-3998. 84:1 (2018) 71–79. doi: 10.1038/s41390-018-0022-z.
17. DERRIEN, Muriel; ALVAREZ, Anne-Sophie; VOS, Willem M. DE - The Gut Microbiota in the First Decade of Life. **Trends in microbiology**. ISSN 1878-4380. 27:12 (2019) 997–1010. doi: 10.1016/j.tim.2019.08.001.
18. MARIAT, D. *et al.* - The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. **BMC microbiology**. ISSN 1471-2180. 9:1 (2009) 123. doi: 10.1186/1471-2180-9-123.
19. MAYNARD, Claire; WEINKOVE, David - The Gut Microbiota and Ageing. Em **Subcellular Biochemistry** Disponível em: [http://link.springer.com/10.1007/978-981-13-2835-0\\_12](http://link.springer.com/10.1007/978-981-13-2835-0_12)>. ISBN 9789811328350v. 90. p. 351–371.
20. MUDGIL, Deepak; BARAK, Sheweta - Composition, properties and health benefits of indigestible carbohydrate polymers as dietary fiber: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**. ISSN 01418130. 61:2013) 1–6. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.06.044.
21. SINGH, Rasnik K. *et al.* - Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. **Journal of Translational Medicine**. ISSN 1479-5876. 15:1 (2017) 73. doi: 10.1186/s12967-017-1175-y.
22. KALIANNAN, Kanakaraju *et al.* - A host-microbiome interaction mediates the opposing effects of omega-6 and omega-3 fatty acids on metabolic endotoxemia. **Scientific Reports**. ISSN 2045-2322. 5:1 (2015) 11276. doi: 10.1038/srep11276.

23. MIRANDA, Pedro M. *et al.* - High salt diet exacerbates colitis in mice by decreasing Lactobacillus levels and butyrate production. **Microbiome**. ISSN 2049-2618. 6:1 (2018) 57. doi: 10.1186/s40168-018-0433-4.
24. SUN, Jun - Dietary vitamin D, vitamin D receptor, and microbiome. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**. ISSN 1363-1950. 21:6 (2018) 471–474. doi: 10.1097/MCO.0000000000000516.
25. ETXEBERRIA, U. *et al.* - Reshaping faecal gut microbiota composition by the intake of trans-resveratrol and quercetin in high-fat sucrose diet-fed rats. **Journal of Nutritional Biochemistry**. ISSN 18734847. 26:6 (2015) 651–660. doi: 10.1016/j.jnutbio.2015.01.002.
26. GARCIA-MANTRANA, Izaskun *et al.* - Shifts on Gut Microbiota Associated to Mediterranean Diet Adherence and Specific Dietary Intakes on General Adult Population. **Frontiers in Microbiology**. ISSN 1664-302X. 9:MAY (2018) 1–11. doi: 10.3389/fmicb.2018.00890.
27. SALIM, Safa *et al.* - Gut microbiome and Parkinson's disease: Perspective on pathogenesis and treatment. **Journal of Advanced Research**. ISSN 20901232. xxxx (2022). doi: 10.1016/j.jare.2022.10.013.
28. ARENAS-MONTES, Javier *et al.* - Owning a Pet Is Associated with Changes in the Composition of Gut Microbiota and Could Influence the Risk of Metabolic Disorders in Humans. **Animals**. ISSN 2076-2615. 11:8 (2021) 2347. doi: 10.3390/ani11082347.
29. KARL, J. Philip *et al.* - Changes in intestinal microbiota composition and metabolism coincide with increased intestinal permeability in young adults under prolonged physiological stress. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**. ISSN 0193-1857. 312:6 (2017) G559–G571. doi: 10.1152/ajpgi.00066.2017.
30. TRASANDE, L. *et al.* - Infant antibiotic exposures and early-life body mass. **International Journal of Obesity**. ISSN 0307-0565. 37:1 (2013) 16–23. doi: 10.1038/ijo.2012.132.
31. MUC, M.; PADEZ, C.; MOTA PINTO, A. - Exposure to paracetamol and antibiotics in early life and elevated risk of asthma in childhood. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. ISSN 00652598. 788:2013) 393–400. doi: 10.1007/978-94-007-6627-3\_53.
32. HVIID, Anders; SVANSTROM, H.; FRISCH, Morten - Antibiotic use and inflammatory bowel diseases in childhood. **Gut**. ISSN 0017-5749. 60:1 (2011) 49–54. doi: 10.1136/gut.2010.219683.
33. MACFARLANE, Sandra; MACFARLANE, George T. - Regulation of short-chain fatty acid

- production. **Proceedings of the Nutrition Society**. ISSN 0029-6651. 62:1 (2003) 67–72. doi: 10.1079/PNS2002207.
34. FRICK, P. G.; RIEDLER, G.; BRÖGLI, H. - Dose response and minimal daily requirement for vitamin K in man. **Journal of applied physiology**. ISSN 00218987. 23:3 (1967) 387–389. doi: 10.1152/jappl.1967.23.3.387.
35. MAGNÚSDÓTTIR, Stefanía *et al.* - Systematic genome assessment of B-vitamin biosynthesis suggests cooperation among gut microbes. **Frontiers in Genetics**. ISSN 16648021. 6:MAR (2015). doi: 10.3389/fgene.2015.00148.
36. PENG, Luying *et al.* - Butyrate Enhances the Intestinal Barrier by Facilitating Tight Junction Assembly via Activation of AMP-Activated Protein Kinase in Caco-2 Cell Monolayers. **The Journal of Nutrition**. ISSN 00223166. 139:9 (2009) 1619–1625. doi: 10.3945/jn.109.104638.
37. MURGUIONDO-PÉREZ, Renata *et al.* - The influence of gut brain axis in neurodegenerative diseases: short review. **Revista Mexicana de Neurociencia**. ISSN 2604-6180. 23:5 (2022) 177–182. doi: 10.24875/RMN.210000821.
38. ZHU, Xueling *et al.* - The Relationship Between the Gut Microbiome and Neurodegenerative Diseases. **Neuroscience bulletin**. ISSN 1995-8218. 37:10 (2021) 1510–1522. doi: 10.1007/s12264-021-00730-8.
39. BONAZ, Bruno; BAZIN, Thomas; PELLISSIER, Sonia - The Vagus Nerve at the Interface of the Microbiota-Gut-Brain Axis. **Frontiers in Neuroscience**. ISSN 1662-453X. 12:FEB (2018) 1–9. doi: 10.3389/fnins.2018.00049.
40. BRAVO, Javier A. *et al.* - Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. ISSN 1091-6490. 108:38 (2011) 16050–5. doi: 10.1073/pnas.1102999108.
41. SHERWIN, Eoin *et al.* - May the Force Be With You: The Light and Dark Sides of the Microbiota-Gut-Brain Axis in Neuropsychiatry. **CNS drugs**. ISSN 1179-1934. 30:11 (2016) 1019–1041. doi: 10.1007/s40263-016-0370-3.
42. MITRA, Sarmistha *et al.* - Brain modulation by the gut microbiota: From disease to therapy. **Journal of Advanced Research**. ISSN 20901232. xxxx (2022). doi: 10.1016/j.jare.2022.12.001.
43. ENNIS, Gilda E. *et al.* - Long-term cortisol measures predict Alzheimer disease risk. **Neurology**. ISSN 0028-3878. 88:4 (2017) 371–378. doi: 10.1212/WNL.0000000000003537.

44. MARTIN-GALLAUSIAUX, Camille *et al.* - Short Chain Fatty Acids – mechanisms and functional importance in the gut. **Proceedings of the Nutrition Society**. ISSN 14752719. 80:1 (2021) 37–49.
45. BRANISTE, Viorica *et al.* - The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. **Science Translational Medicine**. ISSN 1946-6234. 6:263 (2014) 53–55. doi: 10.1126/scitranslmed.3009759.
46. VAILATI-RIBONI, Mario *et al.* - Dietary Fiber as a Counterbalance to Age-Related Microglial Cell Dysfunction. **Frontiers in Nutrition**. ISSN 2296861X. 9:March (2022) 1–13. doi: 10.3389/fnut.2022.835824.
47. BARICHELLO, Tatiana *et al.* - Sodium Butyrate Prevents Memory Impairment by Re-establishing BDNF and GDNF Expression in Experimental Pneumococcal Meningitis. **Molecular Neurobiology**. ISSN 0893-7648. 52:1 (2015) 734–740. doi: 10.1007/s12035-014-8914-3.
48. DINAN, Timothy G.; CRYAN, John F. - The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. **Gastroenterology Clinics of North America**. ISSN 08898553. 46:1 (2017) 77–89. doi: 10.1016/j.gtc.2016.09.007.
49. GAO, Kan *et al.* - Tryptophan Metabolism: A Link Between the Gut Microbiota and Brain. **Advances in nutrition (Bethesda, Md.)**. ISSN 2156-5376. 11:3 (2020) 709–723. doi: 10.1093/advances/nmz127.
50. LEAL, María Celeste *et al.* - Interleukin-1beta and TNF-alpha: Reliable targets for protective therapies in Parkinson's disease? **Frontiers in Cellular Neuroscience**. ISSN 16625102. 7:APR (2013) 1–10. doi: 10.3389/fncel.2013.00053.
51. INTERNATIONAL AD - Alzheimer's Disease International: World Alzheimer Report 2022 – Life after diagnosis. 2022).
52. GOETZ, Christopher G. *et al.* - Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): scale presentation and clinimetric testing results. **Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society**. ISSN 1531-8257. 23:15 (2008) 2129–70. doi: 10.1002/mds.22340.
53. THE ALZHEIMER'S ASSOCIATION INTERNATIONAL CONFERENCE - NIA-AA Revised Clinical Criteria for Alzheimer's Disease. 2023).
54. RAJIAH, Kingston *et al.* - Quality of Life and Caregivers' Burden of Parkinson's Disease. **Neuroepidemiology**. ISSN 1423-0208. 48:3–4 (2017) 131–137. doi: 10.1159/000479031.

55. WIMO, Anders *et al.* - The GERAS study: A prospective observational study of costs and resource use in community dwellers with Alzheimer's disease in three European countries - Study design and baseline findings. **Journal of Alzheimer's Disease**. ISSN 18758908. 36:2 (2013) 385–399. doi: 10.3233/JAD-122392.
56. TYSNES, Ole Bjørn; STORSTEIN, Anette - Epidemiology of Parkinson's disease. **Journal of Neural Transmission**. ISSN 14351463. 124:8 (2017) 901–905. doi: 10.1007/s00702-017-1686-y.
57. MARASCO, Richard A. - Current and evolving treatment strategies for the Alzheimer disease continuum. **The American journal of managed care**. ISSN 1936-2692. 26:8 Suppl (2020) S167–S176. doi: 10.37765/ajmc.2020.88481.
58. KOUTZOUNIS, Dimitri N. *et al.* - Alterations of the gut microbiota with antibiotics protects dopamine neuron loss and improve motor deficits in a pharmacological rodent model of Parkinson's disease. **Experimental neurology**. ISSN 1090-2430. 325:2020) 113159. doi: 10.1016/j.expneurol.2019.113159.
59. SHANDILYA, Shruti *et al.* - Interplay of gut microbiota and oxidative stress: Perspective on neurodegeneration and neuroprotection. **Journal of Advanced Research**. ISSN 20901232. 38:2022) 223–244. doi: 10.1016/j.jare.2021.09.005.
60. ERKKINEN, Michael G.; KIM, Mee Ohk; GESCHWIND, Michael D. - Clinical neurology and epidemiology of the major neurodegenerative diseases. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**. ISSN 19430264. 10:4 (2018) a033118. doi: 10.1101/cshperspect.a033118.
61. WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Parkinson disease: a public health approach. Technical brief.** Disponível em: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.291.3.390>>.
62. LIBERATORE, Gabriel T. *et al.* - Inducible nitric oxide synthase stimulates dopaminergic neurodegeneration in the MPTP model of Parkinson disease. **Nature medicine**. ISSN 1078-8956. 5:12 (1999) 1403–9. doi: 10.1038/70978.
63. ZHANG, Wei *et al.* - Aggregated alpha-synuclein activates microglia: a process leading to disease progression in Parkinson's disease. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**. ISSN 1530-6860. 19:6 (2005) 533–42. doi: 10.1096/fj.04-2751com.
64. REEVE, A. K. *et al.* - Aggregated  $\alpha$ -synuclein and complex I deficiency: exploration of



- their relationship in differentiated neurons. **Cell Death & Disease**. ISSN 2041-4889. 6:7 (2015) e1820–e1820. doi: 10.1038/cddis.2015.166.
65. RIETDIJK, Carmen D. *et al.* - Exploring Braak's Hypothesis of Parkinson's Disease. **Frontiers in Neurology**. ISSN 1664-2295. 8:February (2017). doi: 10.3389/fneur.2017.00037.
66. SHANNON, Kathleen M. *et al.* - Alpha-synuclein in colonic submucosa in early untreated Parkinson's disease. **Movement Disorders**. ISSN 08853185. 27:6 (2012) 709–715. doi: 10.1002/mds.23838.
67. MASUDA-SUZUKAKE, Masami *et al.* - Prion-like spreading of pathological  $\alpha$ -synuclein in brain. **Brain**. ISSN 1460-2156. 136:4 (2013) 1128–1138. doi: 10.1093/brain/awt037.
68. SHRIVASTAVA, Amulya Nidhi *et al.* -  $\alpha$ -synuclein assemblies sequester neuronal  $\alpha$ 3-Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> - ATPase and impair Na<sup>+</sup> gradient. **The EMBO Journal**. ISSN 0261-4189. 34:19 (2015) 2408–2423. doi: 10.15252/embj.201591397.
69. SU, Xiaomin *et al.* - Synuclein activates microglia in a model of Parkinson's disease. **Neurobiology of Aging**. ISSN 01974580. 29:11 (2008) 1690–1701. doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2007.04.006.
70. FORSYTH, Christopher B. *et al.* - Increased intestinal permeability correlates with sigmoid mucosa alpha-synuclein staining and endotoxin exposure markers in early Parkinson's disease. **PloS one**. ISSN 1932-6203. 6:12 (2011) e28032. doi: 10.1371/journal.pone.0028032.
71. SAMPSON, Timothy R. *et al.* - Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. **Cell**. ISSN 00928674. 167:6 (2016) 1469-1480.e12. doi: 10.1016/j.cell.2016.11.018.
72. BHATTACHARYYA, Dipita *et al.* - Lipopolysaccharide from Gut Microbiota Modulates  $\alpha$ -Synuclein Aggregation and Alters Its Biological Function. **ACS Chemical Neuroscience**. ISSN 1948-7193. 10:5 (2019) 2229–2236. doi: 10.1021/acscemneuro.8b00733.
73. CHORELL, Erik *et al.* - Bacterial Chaperones CsgE and CsgC Differentially Modulate Human  $\alpha$ -Synuclein Amyloid Formation via Transient Contacts. **PLOS ONE**. ISSN 1932-6203. 10:10 (2015) e0140194. doi: 10.1371/journal.pone.0140194.
74. DALVI, Siddhartha *et al.* - Exogenous arachidonic acid mediates permeability of human brain microvessel endothelial cells through prostaglandin E2 activation of EP3 and EP4 receptors. **Journal of Neurochemistry**. ISSN 14714159. 135:5 (2015) 867–879. doi: 10.1111/jnc.13117.

75. LIU, Jiaming *et al.* - Sodium butyrate exerts protective effect against Parkinson's disease in mice via stimulation of glucagon like peptide-1. **Journal of the neurological sciences**. ISSN 1878-5883. 381:2017) 176–181. doi: 10.1016/j.jns.2017.08.3235.
76. 2021 Alzheimer's disease facts and figures. - **Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association**. ISSN 1552-5279. 17:3 (2021) 327–406. doi: 10.1002/alz.12328.
77. SHANKAR, Ganesh M. *et al.* - Amyloid- $\beta$  protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. **Nature Medicine**. ISSN 1078-8956. 14:8 (2008) 837–842. doi: 10.1038/nm1782.
78. MUCKE, Lennart; SELKOE, Dennis J. - Neurotoxicity of amyloid  $\beta$ -protein: Synaptic and network dysfunction. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**. ISSN 21571422. 2:7 (2012) 1–17. doi: 10.1101/cshperspect.a006338.
79. LAMBERT, M. P. *et al.* - Diffusible, nonfibrillar ligands derived from A $\beta$  1–42 are potent central nervous system neurotoxins. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. ISSN 0027-8424. 95:11 (1998) 6448–6453. doi: 10.1073/pnas.95.11.6448.
80. VEERESHWARAYYA, Vimal *et al.* - Differential effects of mitochondrial heat shock protein 60 and related molecular chaperones to prevent intracellular beta-amyloid-induced inhibition of complex IV and limit apoptosis. **The Journal of biological chemistry**. ISSN 0021-9258. 281:40 (2006) 29468–78. doi: 10.1074/jbc.M602533200.
81. FERREIRA, Sergio T.; KLEIN, William L. - The A $\beta$  oligomer hypothesis for synapse failure and memory loss in Alzheimer's disease. **Neurobiology of learning and memory**. ISSN 1095-9564. 96:4 (2011) 529–43. doi: 10.1016/j.nlm.2011.08.003.
82. KHAN, Sahil; BARVE, Kalyani H.; KUMAR, Maushmi S. - Recent Advancements in Pathogenesis , Diagnostics and Treatment of Alzheimer ' s Disease. 2020) 1106–1125. doi: 10.2174/1570159X18666200528142429.
83. LEDO, J. H. *et al.* - Amyloid- $\beta$  oligomers link depressive-like behavior and cognitive deficits in mice. **Molecular psychiatry**. ISSN 1476-5578. 18:10 (2013) 1053–4. doi: 10.1038/mp.2012.168.
84. ANGELUCCI, Francesco *et al.* - Antibiotics, gut microbiota, and Alzheimer's disease. **Journal of Neuroinflammation**. ISSN 1742-2094. 16:1 (2019) 108. doi: 10.1186/s12974-019-1494-4.
85. HONARPISHEH, Pedram *et al.* - Dysregulated Gut Homeostasis Observed Prior to the

Accumulation of the Brain Amyloid- $\beta$  in Tg2576 Mice. **International journal of molecular sciences**. ISSN 1422-0067. 21:5 (2020) 1711. doi: 10.3390/ijms21051711.

86. HU, Xu; WANG, Tao; JIN, Feng - Alzheimer's disease and gut microbiota. **Science China Life Sciences**. ISSN 1674-7305. 59:10 (2016) 1006–1023. doi: 10.1007/s11427-016-5083-9.

87. BALIN, Brian J.; HUDSON, Alan P. - Etiology and pathogenesis of late-onset Alzheimer's disease. **Current Allergy and Asthma Reports**. ISSN 15346315. 14:3 (2014). doi: 10.1007/s11882-013-0417-1.

88. KOBAYASHI, Yodai *et al.* - Therapeutic potential of Bifidobacterium breve strain AI for preventing cognitive impairment in Alzheimer's disease. **Scientific Reports**. ISSN 20452322. 7:1 (2017) 1–10. doi: 10.1038/s41598-017-13368-2.

89. AKBARI, Elmira *et al.* - Effect of Probiotic Supplementation on Cognitive Function and Metabolic Status in Alzheimer's Disease: A Randomized, Double-Blind and Controlled Trial. **Frontiers in Aging Neuroscience**. ISSN 1663-4365. 8:NOV (2016). doi: 10.3389/fnagi.2016.00256.

90. BONFILI, Laura *et al.* - SLAB51 Probiotic Formulation Activates SIRT1 Pathway Promoting Antioxidant and Neuroprotective Effects in an AD Mouse Model. **Molecular neurobiology**. ISSN 1559-1182. 55:10 (2018) 7987–8000. doi: 10.1007/s12035-018-0973-4.

91. BONFILI, Laura *et al.* - Microbiota modulation counteracts Alzheimer's disease progression influencing neuronal proteolysis and gut hormones plasma levels. **Scientific reports**. ISSN 2045-2322. 7:1 (2017) 2426. doi: 10.1038/s41598-017-02587-2.

92. GEORGESCU, Doina *et al.* - Nonmotor gastrointestinal disorders in older patients with Parkinson's disease: is there hope? **Clinical interventions in aging**. ISSN 1178-1998. 11:2016) 1601–1608. doi: 10.2147/CIA.S106284.

93. MAGISTRELLI, Luca *et al.* - Probiotics may have beneficial effects in Parkinson's disease: In vitro evidence. **Frontiers in Immunology**. ISSN 16643224. 10:May (2019) 1–9. doi: 10.3389/fimmu.2019.00969.

94. DAVANI-DAVARI, Dorna *et al.* - Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. **Foods**. ISSN 2304-8158. 8:3 (2019) 92. doi: 10.3390/foods8030092.

95. SALMINEN, Seppo *et al.* - The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**. ISSN 1759-5045. 18:9 (2021) 649–667. doi:

10.1038/s41575-021-00440-6.

96. MARKOWIAK, Paulina; ŚLIŻEWSKA, Katarzyna - Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. **Nutrients**. ISSN 2072-6643. 9:9 (2017) 1021. doi: 10.3390/nu9091021.

97. LIU, Qing *et al.* - Mannan oligosaccharide attenuates cognitive and behavioral disorders in the 5xFAD Alzheimer's disease mouse model via regulating the gut microbiota-brain axis. **Brain, behavior, and immunity**. ISSN 1090-2139. 95:January (2021) 330–343. doi: 10.1016/j.bbi.2021.04.005.

98. XIN, Yang *et al.* - Effects of Oligosaccharides From *Morinda officinalis* on Gut Microbiota and Metabolome of APP/PS1 Transgenic Mice. **Frontiers in Neurology**. ISSN 1664-2295. 9:JUN (2018) 1–14. doi: 10.3389/fneur.2018.00412.

99. HALL, Deborah A. *et al.* - An open label, non-randomized study assessing a prebiotic fiber intervention in a small cohort of Parkinson's disease participants. **Nature communications**. ISSN 2041-1723. 14:1 (2023) 926. doi: 10.1038/s41467-023-36497-x.

100. DENG, Shin-Meng *et al.* - The beneficial effect of synbiotics consumption on Alzheimer's disease mouse model via reducing local and systemic inflammation. **IUBMB life**. ISSN 1521-6551. 74:8 (2022) 748–753. doi: 10.1002/iub.2589.

101. BARICHELLA, Michela *et al.* - Probiotics and prebiotic fiber for constipation associated with Parkinson disease: An RCT. **Neurology**. ISSN 1526-632X. 87:12 (2016) 1274–80. doi: 10.1212/WNL.0000000000003127.

102. KOUHSARI, Ebrahim *et al.* - Clostridium difficile infection: a review. **Reviews in Medical Microbiology**. ISSN 0954-139X. 29:3 (2018) 103–109. doi: 10.1097/MRM.000000000000135.

103. WANG, Jiunn-Wei *et al.* - Fecal microbiota transplantation: Review and update. **Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi**. ISSN 0929-6646. 118 Suppl:2019) S23–S31. doi: 10.1016/j.jfma.2018.08.011.

104. SUN, Jing *et al.* - Fecal microbiota transplantation alleviated Alzheimer's disease-like pathogenesis in APP/PS1 transgenic mice. **Translational psychiatry**. ISSN 2158-3188. 9:1 (2019) 189. doi: 10.1038/s41398-019-0525-3.

105. HUANG, Hongli *et al.* - Fecal microbiota transplantation to treat Parkinson's disease with constipation: A case report. **Medicine**. ISSN 1536-5964. 98:26 (2019) e16163. doi: 10.1097/MD.0000000000016163.

106. YULUG, Burak *et al.* - Therapeutic role of rifampicin in Alzheimer's disease. **Psychiatry and clinical neurosciences**. ISSN 1440-1819. 72:3 (2018) 152–159. doi: 10.1111/pcn.12637.
107. BRINK, Annelien C. VAN DEN *et al.* - The Mediterranean, Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH), and Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) Diets Are Associated with Less Cognitive Decline and a Lower Risk of Alzheimer's Disease-A Review. **Advances in nutrition (Bethesda, Md.)**. ISSN 2156-5376. 10:6 (2019) 1040–1065. doi: 10.1093/advances/nmz054.
108. MORRIS, Martha Clare *et al.* - MIND diet associated with reduced incidence of Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**. ISSN 1552-5260. 11:9 (2015) 1007–1014. doi: 10.1016/j.jalz.2014.11.009.
109. LIU, Xiaoran *et al.* - Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) study: Rationale, design and baseline characteristics of a randomized control trial of the MIND diet on cognitive decline. **Contemporary Clinical Trials**. ISSN 15517144. 102:1 (2021) 106270. doi: 10.1016/j.cct.2021.106270.