



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Flávio Sulemane Pinho Alves

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “A microbiota intestinal e as consequências da sua alteração” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Maria Emília de Rocha Simões e da Professora Doutora Olga Maria Antunes Cardoso, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2022



UNIVERSIDADE D COIMBRA

Flávio Sulemane Pinho Alves

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “A microbiota intestinal e as consequências da sua alteração” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Dra. Maria Emília de Rocha Simões e da Professora Doutora Olga Maria Antunes Cardoso, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho 2022

Eu, Flávio Sulemane Pinho Alves, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2013131197, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “A microbiota intestinal e as consequências da sua alteração” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e 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, 6 de Julho de 2022.



(Flávio Sulemane Pinho Alves)

Agradecimentos

Ao longo destes últimos quatro anos, o caminho tem sido polvilhado de sangue, suor e lágrimas. Mas também tem sido repleto em amizades e amor.

Em primeiro lugar, quero agradecer à equipa da Farmácia Rocha, em especial à Dra. Esperança Silva e à Dra. Maria Emília de Rocha Simões, por me terem transmitido o que significa ser farmacêutico e por me terem impresso os mais altos valores da profissão farmacêutica.

Agradeço também à Professora Doutora Olga Cardoso o seu indispensável contributo para a minha formação académica ao longo dos anos, especialmente neste momento crucial, agindo como a orientadora da presente monografia.

De seguida vem um agradecimento muito especial à minha segunda casa. Um grande obrigado à minha família da Livraria Bertrand do Alma Shopping. Obrigado por terem estado sempre presentes e por me terem acompanhado ao longo destes últimos anos. Partirei, mas não se trata de um adeus. Trata-se de um até já.

Agradeço também à minha cara-metade, Carina Silva, por ter estado sempre pronta a empurrar-me na direcção certa e pelos seus conselhos certos. Obrigado por teres sempre razão.

Por fim, quero agradecer à minha família e, em particular, à minha mãe, Helena Pinho. Sem o seu contributo essencial e sem o seu carinho sempre presente, teria ficado a meio do caminho. Obrigado, mãe.

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária – Farmácia Rocha

Lista de Abreviaturas	7
1. Introdução	8
2. Caracterização do local de estágio	9
3. Análise SWOT	10
3.1. Pontos Fortes	10
3.1.1. Planeamento do período de estágio	10
3.1.2. Aprovisionamento da farmácia	11
3.1.3. Equipa técnica	12
3.1.4. Sistema informático – Sifarma®	13
3.1.5. Fidelização dos utentes	14
3.2. Pontos Fracos	15
3.2.1. Lacunas na formação académica providenciada pelo mestrado	15
3.2.2. Situação de Trabalhador-estudante	16
3.2.3. Dificuldade em criar uma relação com o utente	16
3.3. Oportunidades	17
3.3.1. Formações complementares	17
3.3.2. Serviço permanente	18
3.3.3. Testes rápidos de antigénio	19
3.4. Ameaças	20
3.4.1. Falta de medicamentos	20
3.4.2. Pontos de venda de medicamentos não sujeitos a receita médica	21
4. Casos Clínicos	23
5. Considerações Finais	26
Referências Bibliográficas	27

Parte II – Monografia – “A microbiota intestinal e as consequências da sua alteração”

Lista de Abreviaturas	30
Resumo	31
Abstract	32
1. Introdução	33
2. Caracterização de uma microbiota saudável	34
2.1. Funções da microbiota	34

2.2. O papel da genética no estabelecimento da microbiota	35
2.3. A composição específica da microbiota e os seus enterótipos	36
2.4. O estabelecimento temporal da microbiota: do nascimento à idade adulta	37
2.5. O efeito de vários factores na composição da microbiota	39
2.6. Interações entre o sistema imunitário do hospedeiro e a microbiota	40
2.7. Visão aprofundada do efeito da utilização de antibióticos na microbiota	41
3. O papel da disbiose da microbiota intestinal no estabelecimento de doença	44
3.1. Obesidade	44
3.2. Artrite reumatóide	48
4. Pharmacomicrobiomics	54
5. Conclusão	57
Referências Bibliográficas	58

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Rocha

Lista de Abreviaturas

DCI – Denominação Comum Internacional

DGS – Direcção Geral de Saúde

MCDT – Meios Complementares de Diagnóstico e Terapêutica

MNSRM – Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MUV – Medicamentos de Uso Veterinário (MUV)

PCHC – Produtos Cosméticos e de Higiene Corporal

SNS – Serviço Nacional de Saúde

SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats*

TRAG – Testes Rápidos de Antígeno

I. Introdução

A farmácia comunitária afigura-se como um pilar da comunidade que serve. A sua importância verifica-se não só na promoção e manutenção da saúde dessa comunidade, mas também na melhoria da educação e literacia para a saúde, fazendo com que a farmácia e o farmacêutico sirvam como indispensáveis agentes de saúde pública. O farmacêutico, para além de realizar a clássica e esperada função de dispensar os medicamentos que os utentes necessitam, acaba por transcender essa função para se tornar algo mais: é a figura de saúde à qual a comunidade primeiro recorre quando necessita de qualquer cuidado de saúde.

O estágio em farmácia comunitária ocorre no final de um percurso académico no qual são ensinadas as particularidades das Ciências Farmacêuticas. Este estágio é de extrema importância, de forma a preparar os alunos para o verdadeiro mercado de trabalho e para aligeirar a transição de um percurso unicamente focado na faculdade para a farmácia.

Uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) é realizada quando é necessário avaliar a posição estratégica de uma organização. Os pontos fortes (*Strengths*) e os pontos fracos (*Weaknesses*) são factores internos e inerentes à organização que permitem, respectivamente, potenciar ou inibir o progresso da mesma. Já as oportunidades (*Opportunities*) e as ameaças (*Threats*) constituem factores externos que, por um lado, a organização pode aproveitar para atingir os seus objectivos, mas que, por outro, podem atrasar ou mesmo impedir a persecução dos objectivos da organização (Silber *et al.*, 2010) (Namugenyi, Nimmagadda e Reiners, 2017).

Assim, o relatório ao qual neste momento se faz a introdução consistirá numa análise SWOT relativamente ao estágio curricular decorrido na Farmácia Rocha, onde tive o prazer de estagiar durante sete meses, sob a orientação da Dra. Maria Emília de Rocha Simões.

2. Caracterização do local de estágio

A Farmácia Rocha encontra-se situada numa localização invejável da Rua do Brasil, em Coimbra, encontrando-se no meio de uma confluência de factores: tem a possibilidade não só de servir a população das habitações que se encontram à sua volta, mas também de prestar os seus serviços aos utentes de ambos os colégios que se encontram à sua frente.

Quanto ao seu horário de expediente, a Farmácia Rocha regula-se pelo seguinte: de segunda-feira a sexta-feira encontra-se aberta de uma forma contínua das 9h às 20h. Aos sábados a farmácia funciona das 9h às 13h. O seu dia de descanso semanal é aos domingos e, por conseguinte, a farmácia encontra-se encerrada. Relativamente ao serviço permanente, a farmácia rege-se pelo Decreto-Lei n.º 53/2007 (*Decreto-lei n.º 53/2007, de 8 de Março, do Ministério da Saúde, 2007*), estando de serviço permanente a cada 20 dias.

A equipa técnica da farmácia é constituída pela Directora Técnica, a Dra. Maria Emília de Rocha Simões, pela farmacêutica substituta Dra. Esperança Silva e pelas farmacêuticas Dra. Liliana Caldeira e Dra. Susana Lopes.

3. Análise SWOT

Para além de servir para avaliar a posição estratégica de uma organização, a análise SWOT também pode ser utilizada para efectuar a avaliação global de um determinado período de tempo. Por conseguinte, será utilizada para elaborar uma avaliação das competências e conhecimentos adquiridos durante o período de estágio. De seguida apresenta-se uma tabela com o resumo dos pontos fortes, pontos fracos, oportunidades e ameaças que, na minha opinião, se verificaram durante o período de estágio.

Tabela I. Tabela que resume os factores abordados na análise SWOT

Pontos Fortes	Pontos Fracos
<ul style="list-style-type: none">• Planeamento do período de estágio• Aprovisionamento da farmácia• Equipa técnica• Sistema informático – Sifarma®• Fidelização de utentes	<ul style="list-style-type: none">• Lacunas na formação académica providenciada pelo mestrado• Situação de Trabalhador-estudante• Dificuldade em criar uma relação com o utente
Oportunidades	Ameaças
<ul style="list-style-type: none">• Formações complementares• Serviço permanente• Testes Rápidos de Antigénio (TRAG)	<ul style="list-style-type: none">• Falta de medicamentos• Pontos de venda de Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica (MNSRM)

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Planeamento do período de estágio

Não tendo o conhecimento de como operava uma farmácia no seu quotidiano, confesso que não sabia muito bem o que esperar no meu primeiro dia de estágio. Contudo, apesar de ter sentido a agravante de entrar para a farmácia num período de elevada pressão, devido à realização de TRAG participados à população, e respectivas medidas de segurança, a Dra. Esperança e a Dra. Maria Emília delinearam o plano de estágio que considero ser o mais lógico.

Deste modo, iniciei o meu percurso na Farmácia Rocha na recepção de encomendas, de modo a se proporcionar um primeiro contacto com os medicamentos, com a sua embalagem e com os respectivos prazos de validade. À recepção de encomendas acoplou-se o armazenamento dos medicamentos na respectiva gaveta, a gestão do *stock* diário da farmácia

e a organização não só da parte interna da farmácia, como o local onde se guardam os medicamentos e o armazém onde essencialmente são armazenados os produtos cosméticos, mas também da parte externa da farmácia, aquela com o qual o utente entra em contacto, passando por reabastecer os produtos cosméticos e os MNSRM adquiridos pelos utentes. Esta organização consistiu também numa atribuição de locais de inventário aos produtos que foram chegando à farmácia, de forma a que possam posteriormente ser encontrados quando são necessários.

Como foi dito anteriormente, encontrando-nos numa fase crítica da realização gratuita de TRAG à população, tendo essa fase coincido com os meses de Janeiro e Fevereiro, coube aos estagiários providenciar a ajuda necessária na introdução dos respectivos resultados em sistema informático, de modo a que esse trabalho não consumisse o tempo e os recursos de uma das farmacêuticas. A gestão de toda a informação necessária a esta introdução, como a data de validade dos testes utilizados, o seu lote, o número de identificação do utente a quem foi realizado o teste e o endereço electrónico para onde enviar posteriormente o relatório, entre outros, criaram, sem dúvida, um ambiente que nos colocou à prova mas que, uma vez ultrapassada a dificuldade inicial, nos tornou mais competentes no manuseio deste tipo de informação e na gestão deste tipo de pressão.

Eventualmente, com a progressão do estágio, também tive a oportunidade de proceder à preparação de medicamentos manipulados, seguindo atentamente as instruções, os conselhos e as observações da Dra. Maria Emília.

Por fim, na fase final do estágio, iniciei a minha descida ao balcão de atendimento, começando por concentrar-me no atendimento personalizado que é realizado pelas farmacêuticas aos utentes da farmácia. Numa primeira fase, o meu atendimento passou por ser realizado com o auxílio sempre presente e sempre agradecido de uma das farmacêuticas de serviço, normalmente a Dra. Esperança. Posteriormente, com o aumento da confiança depositada em mim pela equipa técnica, comecei a realizar o atendimento de forma autónoma, apercebendo-me rapidamente de que cada novo atendimento me traz novos desafios e novas oportunidades de aprender algo de novo, bem como colocar os conhecimentos adquiridos nos anos anteriores em prática.

3.1.2. Aprovisionamento da farmácia

Um facto que se compreende de imediato é que o *stock* da farmácia se adequa ao perfil da população que serve, apesar de, evidentemente, se encontrarem bases comuns. Um

determinado produto, seja este um medicamento ou um produto cosmético, é adquirido com base em três pressupostos: a procura do mesmo pelos utentes que frequentam a farmácia, os acordos que se estabelecem com os diferentes delegados comerciais e a própria estação do ano (um exemplo são os protectores solares). Assim, estes produtos podem ser adquiridos directamente ao laboratório ou através de grandes armazéns, como a Plural + Udifar ou a Alliance Healthcare. É neste caso que se destaca o poder da principal ferramenta de trabalho da farmácia: o Sifarma®. Este programa informático permite estabelecer o stock mínimo e máximo de um determinado produto na farmácia, com o intuito de, uma vez vendido, aparecer automaticamente na proposta de encomenda diária.

É também através deste programa que se efectua a recepção das encomendas diárias, permitindo efectuar a conferência do produto, isto é, verificar se o produto encomendado efectivamente chegou à farmácia. Neste passo é necessário verificar o estado dos medicamentos, o que corresponde à verificação do prazo de validade, do preço de venda ao utente e do estado de acondicionamento. Confirma-se também se toda a documentação se encontra correcta.

Uma vez recepcionadas as encomendas contendo os medicamentos, é necessário proceder à sua arrumação no local devido. Esta tarefa é de extrema importância, pois o extravio de medicamentos na farmácia leva indubitavelmente à perda de tempo na sua procura durante o atendimento do utente. Cada medicamento e produto na farmácia tem um local designado, uma localização de inventário, onde devem ser armazenados até serem novamente necessários. Esta localização varia consoante o tipo de medicamento ou tipo de produto, consistindo em gavetas, armários, prateleiras ou o frigorífico para os medicamentos que necessitam de ser refrigerados.

Como referido anteriormente, no início do meu período de estágio tive a oportunidade de levar a cabo a atribuição de localizações de inventário aos medicamentos e produtos que careciam da mesma. Esta tarefa revelou-se extremamente enriquecedora, uma vez que me permitiu conhecer aprofundadamente as localizações existentes na Farmácia Rocha, bem como familiarizar-me com os medicamentos propriamente ditos, uma realidade com a qual ainda não tivera um contacto até ao começo do estágio.

3.1.3. Equipa técnica

A equipa técnica da farmácia, como supramencionado, é composta por quatro farmacêuticas experientes: pela Directora Técnica, a Dra. Maria Emília Simões, pela

farmacêutica substituta Dra. Esperança Silva e pelas farmacêuticas Dra. Liliana Caldeira e Dra. Susana Lopes. Cada um dos elementos da farmácia divide entre si funções e responsabilidades: a Dra. Maria Emília é responsável pela elaboração da encomenda diária, pela gestão financeira da farmácia e pela administração de injectáveis. Cabe à Dra. Esperança a organização física do espaço da farmácia e a gestão dos materiais promocionais a dispor na farmácia. A Dra. Liliana realiza a conferência do receituário e a Dra. Susana é responsável pelo controlo dos prazos de validade.

Uma equipa que aparenta ser pequena, mas que se revela forte, dinâmica, responsável, e cujo reconhecimento se estende para além dos estagiários para o resto dos utentes que consideram a Farmácia Rocha como a sua farmácia de eleição.

Foi um prazer e uma tremenda oportunidade trabalhar de perto com uma equipa tão competente como aquela que encontrei na Farmácia Rocha. Incutiram em mim valores tão elevados como rigor farmacêutico, responsabilidade e uma vontade de continuamente superar aquilo que é esperado de mim.

3.1.4. Sistema informático – Sifarma®

Desenvolvido pela Glintt, o Sifarma® é o programa informático empregue pela maioria das farmácias portuguesas, e é aquele que é utilizado na Farmácia Rocha. É utilizado em todas as situações da farmácia, tanto em tarefas de *back-office* como em tarefas de *front-office*.

Quanto às tarefas de *back-office*, o Sifarma® possibilita, entre outros, a criação e recepção de encomendas. Durante a criação da encomenda diária, permite uma ligação rápida e cómoda aos diferentes armazéns, tendo uma informação actualizada dos *stocks* e da disponibilidade dos diferentes medicamentos. Durante o expediente da farmácia, os medicamentos que são vendidos e que têm estabelecido um *stock* mínimo aparecem automaticamente numa proposta de encomenda diária. Este processo automatizado auxilia o farmacêutico na reposição do *stock* da farmácia e torna esta tarefa um processo fácil e cómodo. Na recepção da encomenda, como foi referido anteriormente, também é utilizado este programa.

Relativamente a questões de *front-office*, isto é, no que se refere ao atendimento ao cliente, o Sifarma® também se revela uma forte arma no arsenal do farmacêutico, uma vez que permite realizar, de uma forma simples e cuidada, o processamento de receitas, sejam estas manuais, em papel ou electrónicas. Permite também criar fichas de utente, com informações

personalizadas sobre o mesmo, de modo a que possa haver um acompanhamento farmacoterapêutico. De igual forma, permite criar avisos e alertas não só nas fichas dos utentes, como quando estes têm medicação guardada ou encomendada, mas também nas próprias fichas dos medicamentos, alertas esses que podem acabar por beneficiar os utentes. Um exemplo é a recomendação da dispensa de um probiótico aquando da dispensa de um antibiótico.

Por fim, o Sifarma[®] apresenta também informação detalhada sobre cada medicamento comercializado, como a posologia recomendada, as indicações terapêuticas, a constituição em substâncias activas e em excipientes e ainda a classificação ATC. Sem dúvida que estas informações adicionais foram um grande auxílio nos meus atendimentos.

No decorrer do meu estágio, encontravam-se em funcionamento duas versões do Sifarma[®]: o clássico Sifarma 2000[®] e o novo módulo de atendimento, um Sifarma[®] mais moderno e que opera com base num *web browser*. Apesar do segundo ser o futuro do programa informático, continua a não ter muitas das funcionalidades que faz do primeiro uma ferramenta tão indispensável. Várias foram as ocasiões em que, após realizar todo o atendimento ao utente no programa novo, vimo-nos forçados a desistir e a realizar de novo o atendimento no Sifarma 2000[®], tendo o novo módulo de atendimento bloqueado ou forçado a devolver dinheiro ao utente. Foram situações exasperantes, que levaram à perda de tempo por parte do utente e a um aumento de pressão da parte dos farmacêuticos. Contudo, apesar de todos estes percalços, acredito que, eventualmente e com o trabalho contínuo por parte da Glintt, o programa novo terá todas as funcionalidades do Sifarma 2000[®].

3.1.5. Fidelização dos utentes

Ao longo do meu estágio tive a oportunidade de observar que, apesar da farmácia também se encontrar preparada para servir outro tipo de utentes, a maior parte dos utentes que a procuram pertencem a um estrato etário envelhecido. Ao longo dos anos estes utentes têm frequentado a farmácia e assim criaram uma relação de proximidade, familiaridade e intimidade com a farmácia e com as respectivas farmacêuticas. Houve, aliás, situações nas quais um utente habitual apenas quis ser atendido pela sua farmacêutica de eleição. Entre outras, este tipo de situações denota a elevada taxa de utentes fidelizados que a farmácia apresenta, o que acaba por ser um aspecto positivo, uma vez que permite que ocorra um acompanhamento farmacoterapêutico e clínico do utente. Estes utentes depositam diariamente a sua confiança no trabalho e no empenho das farmacêuticas da Farmácia Rocha.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Lacunas na formação académica providenciada pelo mestrado

Uma farmácia vende muito mais do que medicamentos, desde produtos cosméticos e de higiene corporal (PCHC) até suplementos alimentares, passando por produtos ortopédicos e por dispositivos médicos. Tendo em conta esta realidade, sinto que a formação providenciada pelo mestrado não foi a suficiente, pelo menos em alguns aspectos, para me preparar completamente para o ambiente real de uma farmácia.

Um dos aspectos que gostaria de referir são os Medicamentos de Uso Veterinário (MUV). A Unidade Curricular leccionada durante o mestrado acaba por se focar apenas nos aspectos farmacocinéticos e farmacodinâmicos deste tipo de medicamentos, descartando uma parte igualmente importante: o aconselhamento farmacêutico. Em muitas situações, tais como o exemplo de contraceptivos hormonais e desparasitantes, senti não ter o conhecimento necessário para realizar a dispensa deste tipo de medicamentos. Apenas através da orientação e dos ensinamentos das farmacêuticas da Farmácia Rocha me foi possível aprender a realizar este tipo de aconselhamento.

Aproveitando a menção de aconselhamento farmacêutico, confesso que foi um dos aspectos do estágio com os quais tive mais dificuldade. A devastadora sensação de responsabilidade em realizar este aconselhamento deixou-me, por vezes, petrificado e obrigou-me a investigar, estudar e pedir muitas vezes ajuda. Felizmente, à medida que o estágio foi avançando, o mesmo se verificou com a minha experiência e a minha confiança no meu conhecimento, permitindo-me realizar um aconselhamento farmacêutico competente.

Outra dificuldade, especialmente sentida no início do estágio, foi associar o nome comercial à Denominação Comum Internacional (DCI). Inúmeras foram as vezes em que senti a necessidade de consultar a ficha científica do medicamento no Sifarma[®] de modo a poder aprender a associar um determinado princípio activo ao nome comercial. Contudo, ao longo do estágio, com a inevitável familiarização que ocorreu com os medicamentos, esta dificuldade foi ultrapassada.

Por fim, considero o estágio de extrema importância, não só para conhecer a realidade do quotidiano de uma farmácia, longe do ambiente académico da faculdade, mas também para haver uma aplicação prática do conhecimento teórico adquirido ao longo de um prolongado percurso. Desta forma, não concordo com a existência de apenas um estágio obrigatório durante o mestrado integrado. Acredito que seria benéfico a existência de pelo menos dois

destes estágios. Estou a par da existência da possibilidade de realizar estágios de Verão, mas o seu carácter facultativo levou-me, infelizmente, a desvalorizar a sua importância; em retrospectiva, sinto que deveria ter aproveitado, não obstante as suas implicações. A existência de mais do que um estágio obrigatório durante o Mestrado Integrado seria óptimo na medida em que este último estágio, antes de ingressar no mercado de trabalho, seria melhor aproveitado, existindo desde já uma familiarização com o ambiente de trabalho de uma farmácia.

3.2.2. Situação de Trabalhador-estudante

Prefacio este tópico dizendo que, desde o início do meu percurso no Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, tenho tido um emprego *full-time*. Esta dinâmica obrigou-me a fazer sacrifícios ao longo do caminho, cujos frutos espero agora colher. No entanto, não posso deixar de mencionar que realizar um estágio de 810 horas em tempo útil enquanto simultaneamente se trabalha 40h semanais num emprego *full-time* não foi tarefa fácil. E este aspecto foi, sem dúvida, o ponto mais exasperante do meu estágio. A obrigação de me apresentar diariamente no meu emprego levou a que, na maior parte dos dias, eu fizesse apenas o turno da manhã na farmácia, acabando por perder a aprendizagem que advém do resto do dia de trabalho. Este aspecto atrasou a minha formação como farmacêutico, a familiarização com o ambiente da farmácia, a minha passagem para o balcão de atendimento e, conseqüentemente, o contacto com os utentes; fez também com que eu me tivesse de esforçar mais para conseguir acompanhar o ritmo de trabalho existente na farmácia. Evidentemente é uma situação que não recomendo, não só pelo pouco tempo que diariamente passei na farmácia, mas também por uma questão de cansaço, desespero, ansiedade e mesmo *burn-out*.

Todavia, com a constante ajuda, apoio e completa disponibilidade da equipa da Farmácia Rocha, consegui atingir as horas necessárias e terminar o estágio. Mas mais importante, consegui acompanhar o ritmo de trabalho, aprender o necessário e tornar-me num farmacêutico capaz e responsável, à semelhança daquelas que tanto por mim zelaram. Tendo em conta a situação apresentada, sempre foi feito o melhor possível.

3.2.3. Dificuldade em criar uma relação com o utente

Como referi anteriormente, existe um forte laço entre a Farmácia Rocha e os utentes que a elegem como a sua farmácia predilecta. E este vínculo é algo de incrivelmente benéfico

tanto para os utentes como para a farmácia. Mas, infelizmente, acabou por se revelar um aspecto negativo para os estagiários. Este relacionamento encontra-se tão marcado que houve situações em que os utentes se recusaram a serem atendidos por mim, preferindo esperar o fim do atendimento de uma das farmacêuticas da Farmácia Rocha. Longe de me deixar desiludido, consegui observar a existência de uma forte relação entre a farmácia e a comunidade que serve, algo que, pessoalmente, acho extremamente importante. Porém, este aspecto impediu-me de criar qualquer tipo de ligação com o utente. Fui visto como alguém passageiro, que não se encontra para ficar, e, portanto, como alguém com quem não vale a pena criar uma ligação. Sendo a Farmácia Rocha uma farmácia “de bairro”, a ausência desta ligação dificultou o meu atendimento e a minha ligação aos utentes. Acredito que, se o estágio fosse mais longo, este relacionamento acabaria por se formar naturalmente.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Formações complementares

Durante o meu estágio na Farmácia Rocha foi sempre enaltecida a importância da formação complementar na vida profissional de um farmacêutico. E, de acordo com o Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos (*Regulamento n.º 1015/2021, de 20 de dezembro, 2021*), o farmacêutico tem realmente o dever de “promover a actualização permanente dos seus conhecimentos técnicos e científicos”. Encontrando-nos numa era em que o progresso científico e os ganhos para a saúde são constantes, é necessário que o farmacêutico se encontre a par destes novos conhecimentos de modo a poder proporcionar os melhores cuidados de saúde aos utentes que o procuram. Para tal, é indispensável procurar e assistir acções de formação que permitam realizar esta actualização de conhecimentos.

A maior parte das formações são promovidas por laboratórios farmacêuticos, de modo a informar o farmacêutico sobre novos lançamentos ou de forma a promover a importância de produtos que já se encontram no mercado. Existem outras formações que levam a cabo uma consolidação de conhecimentos em determinada área, como é o exemplo da insónia, com o objectivo de melhorar o aconselhamento que é prestado ao utente.

Uma vez que ainda nos encontramos num tempo em que a maior parte das pessoas não se sentem seguras ao estarem presentes em eventos presenciais, a grande parte das acções de formação às quais assisti consistiram num formato *online*. Este formato tem as suas vantagens, como ser possível assistir à formação a partir de qualquer parte do país, evitando

deslocações e riscos desnecessários. Contudo, também tem as suas desvantagens, sendo que acredito que num evento presencial existe uma maior disponibilidade para prestar atenção e, conseqüentemente, consolidar o conhecimento. A única acção de formação em formato presencial que tive oportunidade de assistir foi promovida pela Pharmanord, laboratório farmacêutico produtor de suplementos alimentares.

Estas acções de formação encontram-se, na sua maioria, vedadas a alunos que ainda se encontram a frequentar de forma exclusiva o mestrado integrado, pelo que considero um privilégio ter tido a oportunidade de assistir a algumas destas formações.

3.3.2. Serviço permanente

O Decreto-Lei n.º 172/2012, de 1 de Agosto (*Decreto-Lei n.º 172/2012, de 1 de Agosto, do Ministério da Saúde, 2012*), revê a legislação anterior, regula o horário de funcionamento das farmácias de oficina e determina o estabelecimento de um horário de serviço permanente. O Decreto-Lei institui que o serviço permanente consiste no “funcionamento, ininterruptamente, desde a hora de abertura até à hora de encerramento do dia seguinte”. Na Farmácia Rocha e nas farmácias de Coimbra este turno de serviço permanente ocorre com uma periodicidade de 20 dias.

Tendo em conta que nestas alturas a farmácia se encontra aberta para além do seu horário normal, o serviço permanente é uma oportunidade não só para atender utentes diferentes da população habitual, mas também para dispensar uma maior variedade de medicamentos. Contudo, apesar de se afigurar como uma oportunidade, é necessário adoptar uma atitude mais cuidadosa aquando do atendimento do utente, precisamente por este se afastar do utente habitual. Além disso, os utentes que se dirigem à farmácia num dia de serviço permanente têm uma necessidade urgente. Assim, como a medicação é diferente daquela que habitualmente poderá fazer, é necessário um maior cuidado aquando da sua dispensa, no sentido de informar o utente das suas particularidades.

Da primeira vez que tive a oportunidade de estar presente na farmácia num dia de serviço permanente fiquei surpreendido com a quantidade de utentes que se dirigem à mesma, especialmente à noite. A maior parte destes utentes provêm do serviço de urgência dos diferentes hospitais da cidade, procurando aviar as suas receitas. Contudo, também existem casos esporádicos e que fogem da regra. Longe da cacofonia do quotidiano, considero que os dias de serviço permanente foram aqueles nos quais mais aprendi, não só sobre os meandros do programa informático que é utilizado na farmácia, mas também sobre os problemas de

saúde que afligem os utentes que procuraram a farmácia nessas situações e os medicamentos utilizados para os resolver ou aliviar.

Acima de tudo, é um serviço que a farmácia presta à população e que, apesar de representar um sacrifício para o farmacêutico que se encontra na farmácia, acaba por trazer uma certa dignidade à profissão.

3.3.3. Testes rápidos de antigénio

Importa em primeiro lugar definir o que se entende por TRAG. De uma forma geral, existem dois tipos de testes para a detecção da COVID-19: os testes que detectam o vírus SARS-CoV-2 e os testes que detectam a resposta imune ao vírus. Os TRAG incluem-se no primeiro grupo e são aqueles que são indicados pela Direcção Geral de Saúde (DGS) para a realização na farmácia; trata-se de um ensaio imunocromatográfico, usando uma amostra nasofaríngea, dando origem a um resultado rápido (10 a 30 minutos). Reduzem o atraso no diagnóstico e são úteis para identificar e interromper cadeias de transmissão. Ao invés, os testes que detectam a resposta imune ao vírus, como os testes que detectam a presença de anticorpos, não são recomendados para diagnóstico, uma vez que não permitem distinguir entre infecção activa e infecção prévia.

Devido à prevalência de casos em meados do ano de 2021, foi legislada, pela Portaria n.º 138-B/2021 (*Portaria n.º 138-B/2021, de 30 de Junho, 2021*), a comparticipação da realização de TRAG para a população portuguesa. Assim, em virtude da situação pandémica verificada, aquando do surgimento da oportunidade de realizar TRAG à população, a Farmácia Rocha adoptou este serviço e tornou-se na única farmácia da sua esfera mais próxima a prestar este serviço à população. Eventualmente a Portaria n.º 255-A/2021 (*Portaria n.º 255-A/2021, de 18 de Novembro, 2021*) legislou a abrangência deste serviço a toda a população, levando a um enorme fluxo de pessoas à farmácia, especialmente tendo em conta a obrigatoriedade de apresentação de um resultado negativo para aceder a vários estabelecimentos, nomeadamente visitas a hospitais e lares. Este fluxo representou, sem dúvida, uma fonte de rendimento adicional para a farmácia.

A comparticipação de TRAG terminou no dia 30 de Abril deste ano, com o fim da vigência da Portaria n.º 255-A/2021 (*Portaria n.º 255-A/2021, de 18 de Novembro, 2021*). Contudo, face a uma evolução contínua e crescente da situação pandémica no país, foi estabelecida a Portaria n.º 151-B/2022 (*Portaria n.º 151-B/2022, de 23 de Maio, 2022*), que estabelece um novo regime de comparticipação de TRAG, com algumas diferenças em relação

ao regime anterior. Neste caso, a comparticipação está limitada a um preço máximo de 10€ por pessoa e só é realizada mediante a apresentação na farmácia de códigos pelo utente, tal como se de uma receita electrónica se tratasse, que permitem o acesso à prescrição de Meios Complementares de Diagnóstico e Terapêutica (MCDT) do Serviço Nacional de Saúde (SNS).

Na Tabela II encontra-se uma cronologia do processo de comparticipação de TRAG, de modo a fomentar uma melhor compreensão do mesmo.

Tabela II. Cronologia da legislação sobre a implementação de TRAG nas farmácias

30 de Junho de 2021	Portaria n.º 138-B/2021 (<i>Portaria n.º 138-B/2021, de 30 de Junho, 2021</i>): Estabelece a comparticipação de 4 testes por mês, com preço máximo de 10€, a pessoas não vacinadas/recuperadas.
31 de Agosto de 2021	Portaria n.º 182/2021 (<i>Portaria n.º 182/2021, de 31 de Agosto, 2021</i>): Prorrogação da comparticipação até 30 de Setembro
18 de Novembro de 2021	Portaria n.º 255-A/2021 (<i>Portaria n.º 255-A/2021, de 18 de Novembro, 2021</i>): Renovação da comparticipação de TRAG com abrangência a toda a população
3 de Dezembro de 2021	Portaria n.º 281-A/2021 (<i>Portaria n.º 281-A/2021, de 3 de Dezembro, 2021</i>): Majoração do preço máximo da realização de TRAG de uso profissional para 15€
27 de Janeiro de 2022	Portaria n.º 57/2022 (<i>Portaria n.º 57/2022, de 27 de Janeiro, 2022</i>): Prorrogação da comparticipação até 28 de Fevereiro
28 de Fevereiro de 2022	Portaria n.º 105/2022 (<i>Portaria n.º 105/2022, de 28 de Fevereiro, 2022</i>): Prorrogação da comparticipação até 31 de Março, descida do preço máximo para 10€ e limite de 2 testes por pessoa
30 de Abril de 2022	Fim da vigência da Portaria n.º 255-A/2021 – fim da comparticipação de TRAG
23 de Maio de 2022	Portaria n.º 151-B/2022 (<i>Portaria n.º 151-B/2022, de 23 de Maio, 2022</i>): Estabelece um novo regime de comparticipação para a realização de TRAG, mantendo um preço máximo de 10€ por utente

3.4. Ameaças

3.4.1. Falta de medicamentos

A falta de medicamentos que se tem vindo a notar ao longo do ano de 2022 pode ser vista como uma ameaça para a saúde pública no seu todo, constituindo um comprometimento da farmacoterapêutica do utente. Muitas foram as facturas nas quais a encomenda não se

encontrava completa, verificando-se constantemente a falta de um ou outro medicamento. A indisponibilidade destes medicamentos tem um impacto devastador na capacidade do SNS em manter e promover a continuidade da terapêutica do utente.

A falta de medicamentos pode dever-se a problemas relacionados com o fornecimento dos mesmos ou problemas relacionados com a procura dos medicamentos. Além disso, eventos geopolíticos fora do normal também podem perturbar esta cadeia de distribuição (Musazzi, Giorgio, Di e Minghetti, 2020). Neste caso em particular, o que se nota é um problema no fornecimento, devido à falta das matérias-primas necessárias para a produção de medicamentos, o que, por sua vez, está relacionado com, evidentemente, a situação pandémica que se verifica no mundo, mas também com a invasão da Ucrânia pela Rússia e o despoletar de uma guerra no seio da Europa.

A maior parte dos medicamentos que se encontram nesta situação são sujeitos a um processo de rateio por parte dos armazenistas. Isto significa que a farmácia apenas tem direito a uma quantidade fixa de unidades do medicamento por semana, o que leva a que a farmácia não consiga satisfazer as necessidades farmacológicas de todos os seus utentes. É evidente que esta situação é uma ameaça para o bom funcionamento da mesma.

Um exemplo de uma situação que ocorreu durante o estágio curricular é o caso do Ozempic®. Trata-se de um medicamento produzido por um laboratório farmacêutico dinamarquês chamada Novo Nordisk e é indicado no tratamento de adultos com diabetes *mellitus* tipo 2 insuficientemente controlada, como adjuvante à dieta e exercício, tendo como princípio activo o Semaglutido. Como a farmácia tem muitos utentes a utilizar este medicamento e como o mesmo está sujeito a um processo de rateio por parte dos armazenistas, a farmácia viu-se obrigada a contactar directamente o laboratório, de modo a poder satisfazer as necessidades dos seus utentes.

3.4.2. Pontos de venda de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM)

A Lei n.º 38/2005, de 21 de Junho (*Lei n.º 38/2005, de 21 de Junho, da Assembleia da República, 2005*), e o Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de Agosto (*Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de Agosto, do Ministério da Saúde, 2005*), determinaram a possibilidade de venda de MNSRM fora das farmácias, desde que tal ocorra em locais que cumpram os requisitos legais e desde que seja sob a supervisão de um farmacêutico ou técnico de farmácia. A liberalização do mercado farmacêutico teve como objectivo a redução do preço dos MNSRM e a criação de novas oportunidades de trabalho, tanto para farmacêuticos como para técnicos de farmácia.

Contudo, esta liberalização do mercado também teve as suas desvantagens. A concorrência dos grupos que constituem as grandes superfícies de venda, que possuem conseqüentemente um elevado poder de negociação, levam a que seja necessária uma forma de subsistência por parte da farmácia, forçando-a a reduzir minimamente as suas margens e a agrupar-se com outras farmácias de modo a possuir um poder de negociação semelhante. Outra desvantagem é o incentivo à automedicação não supervisionada. É verdade que com a automedicação o utente tenta resolver o seu problema de saúde de uma forma autónoma, mas a ausência de indicação, supervisão, aconselhamento e orientação, uma vez que o responsável do espaço de venda de MNSRM não necessita de estar fisicamente presente, leva a que esta prática constitua um perigo ainda maior.

A remoção do medicamento do espaço físico e controlado da farmácia teve por objectivo principal o aumento do acesso ao medicamento. Alcançou esse objectivo, mas a custo de uma fragmentação do mercado farmacêutico.

4. Casos Clínicos

Caso 1

Uma utente procurou a farmácia, durante o seu horário de serviço permanente, em busca de um tratamento para o terçolho. A utente apresentava, de facto, uma inflamação da pálpebra e o nódulo característico desta condição.

O terçolho consiste numa infecção bacteriana de uma das glândulas que se encontram na pálpebra. Estas glândulas elaboram os componentes das lágrimas e podem ficar inflamadas e infectadas. Forma-se então um abscesso doloroso e palpável. Os terçolhos são comuns em pessoas que possuem blefarite crónica, isto é, uma inflamação crónica das pálpebras.

Dispensei um anti-séptico oftalmológico, chamada Ocudox[®], à base de ácido hipocloroso, e umas toalhas de limpeza periocular, com o nome de Parpafresh[®]. Expliquei à utente de que é de extrema importância lavar sempre as mãos antes e depois de cada aplicação.

As toalhas de limpeza devem ser colocadas ainda no interior do seu invólucro dentro de água quente, de modo a aquecer a toalha e a manter a esterilidade. Posteriormente a toalha deve ser colocada sobre o olho para levar a uma redução da inflamação e a uma libertação do sebo que está acumulado. Por fim, deve ser colocada a pomada antibacteriana.

Finalmente, recomendei uma visita a um médico se a situação não melhorasse nos 5 dias seguintes.

Caso 2

Uma utente dirigiu-se à farmácia da parte da manhã, de modo a comprar a pílula do dia seguinte. Uma vez que se trata de um método contraceptivo de emergência e não de um método que possa ser usado como contraceção frequente, fiz questão de passar essa mensagem à utente. A mesma referiu que havia tido relações sexuais desprotegidas na noite passada e que, assim sendo, necessitava, de facto, de adquirir o medicamento.

Desta forma, dispensei o medicamento Postinor[®], uma pílula com Levonorgestrel, que deve ser tomada de uma única vez no máximo até 72h depois da relação sexual desprotegida. Este princípio activo inibe a libertação do óvulo, atrasando a ovulação, impedindo que este seja fertilizado pelo espermatozóide.

Aconselhei a utente a tomar a pílula o mais rapidamente possível. Como qualquer outro medicamento, esta pílula pode causar efeitos secundários, como vómitos e diarreia. Adverti a utente de que, se apresentar qualquer um destes dois efeitos nas primeiras 3h após a toma do medicamento, deve repetir a sua administração. De igual forma, fiz notar a importância de usar um método contraceptivo de barreira, como o preservativo, até ao aparecimento da menstruação seguinte. Por fim, expressei a necessidade de realizar um teste de gravidez se a menstruação se atrasar mais do que 7 dias ou se surgir menos intensamente do que o normal.

Caso 3

Um utente entrou na farmácia apresentando pequenas borbulhas avermelhadas e irritativas nas mãos. Revelou que também apresentava as mesmas borbulhas nos pés. Por último, o utente admitiu que este problema se manifesta principalmente em situações de maior ansiedade.

Deduzi que a situação se tratasse de um caso de disidrose. A disidrose é um tipo de dermatite caracterizada por vesículas irritativas nas regiões laterais dos dedos das mãos e dos pés. É uma situação que pode progredir para prurido, seguido de descamação. Não há uma causa aparente e o diagnóstico é realizado com base na observação das lesões.

De modo a tratar esta situação, dispensei Pandermil[®], um creme cujo princípio activo é a Hidrocortisona, um corticosteróide de aplicação tópica. Este creme deve ser aplicado diariamente à noite nas zonas afectadas pelas vesículas. Realcei a importância de realizar o desmame quando são aplicados corticosteróides.

Dispensei também um creme barreira, de modo a realizar uma reparação da epiderme, que neste caso se encontra danificada. Assim, recomendei um creme reparador da marca La Roche-Posay[®], que tem por objectivo ter um efeito antifricção e um efeito hidratante.

Por fim, recomendei consultar um médico no caso de não melhorar nos 5 dias seguintes.

Caso 4

Uma utente dirigiu-se à farmácia em busca de um medicamento de administração oral, como um comprimido, para tratar a sua caspa persistente. Relatou que comprara um champô no supermercado para o efeito, mas sem resultados visíveis. Expliquei à utente que,

infelizmente, o tratamento da caspa não passa pela administração oral de um medicamento, mas sim pela utilização dos champôs adequados.

Em primeiro lugar, expliquei à utente de onde vem a caspa. Trata-se de uma manifestação de dermatite seborreica. O excesso de oleosidade provocado pelo fungo *Malassezia* leva ao estabelecimento de um processo inflamatório, resultando em comichão intensa do couro cabeludo. Esta comichão leva ao desprendimento de células mortas da pele, que acabam por aderir ao couro cabeludo e ao cabelo.

Como a caspa é causada por um fungo, é necessária a utilização de um champô que contenha antifúngico. Assim, dispensei Tedol[®], um champô que tem como princípio activo o Cetoconazol, um antifúngico para uso tópico. Nas primeiras quatro semanas de tratamento a utente deverá usá-lo três vezes por semana, intercalando essa utilização com um champô de frequência, isto é, um champô que pode ser usado alternativamente com champôs de tratamento. Assim, dispensei também o Bioderma[®] Nodé, um champô precisamente para esse efeito.

Por fim, a utente perguntou se, em vez da utilização deste champô de frequência, poderia usar os champôs que tinha em casa. Recomendei que não o fizesse para já e seguisse o esquema posológico nas primeiras quatro semanas, de modo a ver uma melhoria na sua condição.

Caso 5

Uma utente, do sexo feminino, dirigiu-se à farmácia à procura de uma solução para um problema que a incomodava: um certo desconforto na zona vaginal. A utente pretendia um produto para realizar a sua higiene íntima diária e algo para reduzir a comichão que sentia na zona.

De modo a resolver o primeiro problema recomendei um produto chamado Biorga[®] Familyane, um fluído apaziguador e hidratante, com pH 8. Este produto foi especialmente formulado para a pele sensível e está indicado para a realização da higiene íntima diária. Recomendei utilizar todos os dias no banho.

Quanto à questão da comichão, inferi que se tratava de um problema de falta de hidratação. Assim, dispensei Libifeme[®] Intense Gel, um gel que promove a hidratação da zona vulvar. Avisei a utente de que este produto se destina apenas a um uso exterior, de modo a hidratar e reduzir o desconforto que sentia.

5. Considerações Finais

As ciências farmacêuticas constituem um extenso campo do conhecimento das ciências da saúde, sendo a farmácia e a dispensa de medicamentos a realidade mais evidente deste panorama. Deste modo, a farmácia constitui um marco importante e essencial dos cuidados de saúde, sendo para muitos o primeiro ponto de contacto nesta cadeia.

Após mais de meio ano de estágio na Farmácia Rocha, posso afirmar que este quadro efectivamente se verifica. Consequentemente, desempenhar a profissão de farmacêutico é um exercício constante de diálogo e aprendizagem. O farmacêutico tem de estar constantemente preparado para a situação que o utente lhe apresenta. E foi exactamente isso que tive o privilégio de observar na Farmácia Rocha: um serviço de excelência, profissionalismo e preocupação com o bem-estar do utente.

Foi uma honra ter tido a oportunidade de estagiar numa farmácia onde diariamente se observam os mais altos valores da profissão farmacêutica. E no final deste percurso sinto uma maior apreciação pela responsabilidade que este acto acarreta. Graças a uma orientação constante, este estágio permitiu-me desenvolver as capacidades para também eu me poder tornar um farmacêutico qualificado.

Apesar desta conclusão, apercebo-me de que é impossível completar o processo de aprendizagem; como referido anteriormente, o farmacêutico encontra-se em constante actualização. Contudo, estes sete meses de estágio permitiram-me realizar um crescimento profissional importante e prepararam-me para o verdadeiro mercado de trabalho.

Referências Bibliográficas

1. Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de Agosto, do Ministério da Saúde. Diário da República n.º 156/2005, Série I-A de 2005-08-16. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/134-2005-243692>
2. Decreto-Lei n.º 172/2012, de 1 de Agosto, do Ministério da Saúde. Diário da República n.º 148/2012, Série I de 2012-08-01. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/172-2012-17907>
3. Decreto-lei n.º 53/2007, de 8 de Março, do Ministério da Saúde. Diário da República n.º 48/2007, Série I de 2007-03-08. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/53-2007-519221>
4. Lei n.º 38/2005, de 21 de Junho, da Assembleia da República. Diário da República n.º 117/2005, Série I-A de 2005-06-21. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/lei/38-2005-226233>
5. MUSAZZI, Umberto M.; GIORGIO, Domenico DI; MINGHETTI, Paola - New regulatory strategies to manage medicines shortages in Europe. **International Journal of Pharmaceutics**. ISSN 18733476. 579:2020) 119171. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119171.
6. NAMUGENYI, Christine; NIMMAGADDA, Shastri L.; REINERS, Torsten - SWOT Analysis: A Theoretical Review. Design of a SWOT Analysis Model and its Evaluation in Diverse Design of a SWOT Analysis Model and its Evaluation in Diverse. **Procedia Computer Science**. 159:2019 (2017) 1145–1154.
7. Portaria n.º 105/2022, de 28 de Fevereiro. Diário da República n.º 41/2022, Série I de 2022-02-28. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/105-2022-179719790>
8. Portaria n.º 138-B/2021, de 30 de Junho. Diário da República n.º 125/2021, 2o Suplemento, Série I de 2021-06-30. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/138-b-2021-166158054>
9. Portaria n.º 151-B/2022, de 23 de Maio. Diário da República n.º 99/2022, 1o Suplemento, Série I de 2022-05-23. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/151-b-2022-183801150>
10. Portaria n.º 182/2021, de 31 de Agosto. Diário da República n.º 169/2021, Série I de 2021-08-31. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/182-2021-170514956>

11. Portaria n.º 255-A/2021, de 18 de Novembro. Diário da República n.º 224/2021, 1º Suplemento, Série I de 2021-11-18. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/255-a-2021-174595377>
12. Portaria n.º 281-A/2021, de 3 de Dezembro. Diário da República n.º 234/2021, 1º Suplemento, Série I de 2021-12-03. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/281-a-2021-175397109>
13. Portaria n.º 57/2022, de 27 de Janeiro. Diário da República n.º 19/2022, Série I de 2022-01-27. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/57-2022-178264015>
14. Regulamento n.º 1015/2021, de 20 de Dezembro. Diário da República n.º 244/2021, Série II de 2021-12-20. Disponível em: <https://dre.pt/dre/detalhe/regulamento/1015-2021-176147634>
15. SILBER, Kenneth H. et al. - Handbook of Improving Performance in the Workplace. **Handbook of Improving Performance in the Workplace**. 1:3 (2010) 1–2016. doi: 10.1002/9780470592663.

Parte II

Monografia

“A microbiota intestinal e as consequências da sua alteração”

Lista de Abreviaturas

ACPA – Antibodies Against Citrullinated Peptides or Proteins

APC – Antigen Presenting Cell

BHE – Barreira Hematoencefálica

CHREBP – Carbohydrate Responsive Element-binding Protein

FIAP – Fasting-induced Adipocyte Factor

GABA – Ácido γ -aminobutírico

GALT – Gut-associated Lymphoid Tissue

HLA – Human Leucocyte Antigen

IELs – Intestinal Intraepithelial Lymphocytes

iTregs – Inducible Regulatory T Cells

LPL – Lipoproteína Lípase

NLRs – Nod-like Receptors

PAD – Peptidylarginine Deiminases

PAMP – Pathogen-associated Molecular Patterns

PRR – Pattern Recognition Receptors

RAM – Reacções Adversas ao Medicamento

SCFA – Short Chain Fatty Acids

SNP – Single-nucleotide Polymorphism

TLR – Toll-like Receptor

TNF – Tumor Necrosis Factor

Resumo

A microbiota intestinal diz respeito ao conjunto de todos os microrganismos que residem neste órgão. Correspondendo a uma nova área de estudo, à medida que a investigação progride, verifica-se que os seus constituintes interagem uns com os outros e com o seu hospedeiro, não só de uma forma positiva, mas também de um modo que envolve o desenvolvimento de várias doenças. Deste modo, é feita uma introdução ao tema, envolvendo as diferentes funções e constituições da microbiota intestinal humana, para, de seguida, se apresentar a influência da microbiota no desenvolvimento de obesidade e artrite reumatóide. Para terminar, faz-se uma abordagem a um novo campo de estudo: a farmacomicrobiómica, que observa a interacção da microbiota intestinal com a farmacocinética e farmacodinâmica da administração de diferentes fármacos. Neste momento, devido à sua vasta influência, a microbiota é considerada um segundo genoma humano. É um campo promissor e a sua investigação aumenta de ano para ano. Este documento pretende sumariar os aspectos principais acerca deste tema auspicioso.

Palavras-chave: Microbiota intestinal, Farmacomicrobiómica, Artrite reumatóide, Obesidade, Disbiose.

Abstract

The gut microbiota refers to the entirety of all microorganisms that reside in this organ. Corresponding to a new area of study, as the investigation progresses, it appears that its constituents interact with each other and with their host, not only in a positive way, but also in a way that involves the development of various diseases. In this way, an introduction to the topic is made, involving the different functions and constitutions of the human gut microbiota, and then the influence of the microbiota on the development of obesity and rheumatoid arthritis is presented. Finally, an approach to a new field of study is carried out: pharmacomicrobiomics, which observes the influence of the gut microbiota with the pharmacokinetics and pharmacodynamics of the administration of different drugs. At this time, due to its vast influence, the microbiota is considered a second human genome. It is a promising field, and its research is increasing year by year. This document intends to summarize the main aspects of this auspicious theme.

Keywords: Gut microbiota, pharmacomicrobiomics, Rheumatoid arthritis, Obesity, Dysbiosis.

I. Introdução

Tendo em conta a evolução do ser humano, não é de estranhar que o organismo humano seja composto por mais do que as suas próprias células, sendo constituído também por inúmeras bactérias e vírus. O conjunto de todos os microrganismos que residem no interior do corpo humano é designado por microbiota e os genes que o codificam denominam-se por microbioma. A compreensão de que estes microrganismos interagem entre si e com o respectivo hospedeiro tem vindo a mudar o paradigma da saúde humana, especialmente tendo em conta que estas interações podem levar a alterações de saúde significativas (Clemente *et al.*, 2012).

Estes microrganismos habitam as superfícies do corpo humano que estão expostas ou de alguma forma ligadas ao ambiente externo, formando assim comunidades que desenvolvem uma relação de mutualismo com o seu hospedeiro. Deste modo, estas comunidades existem em vários locais do corpo, como no intestino, na boca e na pele, entre outros, e apresentam elevada variabilidade não só entre si, mas também entre pessoas diferentes. Seria fácil de imaginar que estas comunidades se encontrariam isoladas umas das outras, mas não é isso que se verifica; aliás, em cada organismo humano verifica-se um rico quadro de interligações complexas (Clemente *et al.*, 2012) (Costello *et al.*, 2009) (Ravel *et al.*, 2011).

2. A Caracterização de uma microbiota saudável

2.1. Funções da microbiota

Apesar de existirem várias comunidades microbianas no organismo humano, é no intestino que se encontram o maior número de espécies: os filos dominantes incluem *Firmicutes*, *Bacteroides*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* e *Verrucomicrobia*, sendo que os primeiros dois representam mais de 90% das espécies. A microbiota intestinal possui funções fundamentais no organismo humano, como a síntese de aminoácidos essenciais e o processamento de polissacarídeos vegetais que de outro modo seriam indigeríveis; exerce assim uma acção vital na digestão e no metabolismo. Além destas funções, influencia também a maturação do sistema imunitário, modula a resposta a danos epiteliais (controlando a proliferação e a diferenciação celular), tem efeitos no balanço energético do organismo humano e leva a cabo biotransformações de xenobióticos. Influencia ainda a secreção e a resistência à insulina e a comunicação entre o intestino e o sistema nervoso central, afectando assim as funções neurológicas e mentais do hospedeiro (Gill *et al.*, 2006) (Gomaa, 2020) (Rinninella *et al.*, 2019) (Vallianou *et al.*, 2021).

Especificando o papel essencial da microbiota humana na protecção do organismo humano, verifica-se que umas das formas através das quais esta função é alcançada é pelo meio da colonização das superfícies intestinais, levando à criação de um sistema estável que impede a invasão por microrganismos patogénicos. Além disso, o papel desempenhado por estes microrganismos na digestão leva à produção de ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs – *Short Chain Fatty Acids*), através da fermentação anaeróbica, resultando principalmente em acetato, propionato e butirato; estes constituem os principais metabolitos produzidos pela microbiota e servem como fonte de energia para as células epiteliais, estimulando a circulação sanguínea e o *uptake* de electrólitos, sendo mais um factor que contribui para a manutenção da integridade da mucosa. O butirato, em particular, é um dos substratos preferenciais dos colonócitos e promove o desenvolvimento de uma microbiota saudável (Gomaa, 2020) (Karczewski *et al.*, 2010) (Singh *et al.*, 2017) (Topping e Clifton, 2001).

Outro aspecto a pormenorizar é a influência da microbiota intestinal no eixo que liga o sistema nervoso entérico ao sistema nervoso central. Este eixo determina um meio de ligação e comunicação bidireccional, cuja disfunção pode levar a uma miríade de efeitos negativos, como distúrbios alimentares e inflamação intestinal. Estudos recentes demonstram que a disfunção da microbiota intestinal está associada a alterações na ansiedade, memória e cognição. Alguns dos mecanismos através dos quais esta influência se exerce incluem: a

alteração da composição microbiana, pelo meio da administração exógena de bactérias probióticas ou outros agentes infecciosos, o metabolismo do triptofano, um aminoácido essencial e precursor do neurotransmissor serotonina, e a produção de neurotransmissores e neuromoduladores, como GABA (Ácido γ -aminobutírico), pela própria microbiota intestinal. Constata-se também que os SCFA mencionados afectam a integridade da própria barreira hematoencefálica (BHE): conduzem a um aumento da produção de proteínas *tight junction*, o que leva a um aumento da integridade da barreira, limitando assim a passagem de determinados metabolitos através da mesma. Além disso, a deterioração da microbiota devido ao uso de antibióticos pode levar a sintomas que se assemelham àqueles que se encontram na depressão (Zheng *et al.*, 2019) (Cryan e Dinan, 2012) (Gomaa, 2020) (Hasan Mohajeri *et al.*, 2018).

2.2. O papel da genética no estabelecimento da microbiota

De modo a determinar o papel que a microbiota intestinal desempenha nos diversos estados de doença é necessário em primeiro lugar elucidar e caracterizar o seu estado normal, isto é, o seu estado saudável. Estudos recentes demonstram que o código genético do hospedeiro tem efeito na sua composição. Um exemplo específico, constituindo o sinal mais significativo dos estudos mencionados, é o gene que codifica a enzima lactase, permitindo assim a persistência desta enzima em indivíduos adultos (Cahana e Iraqi, 2020) (Spor, Koren e Ley, 2011) (Goodrich *et al.*, 2017).

A presença de um determinado genótipo, referente a um SNP (*Single-nucleotide Polymorphism*) no cromossoma 2, está associado a uma não persistência da lactase na idade adulta (intolerância à lactose), havendo, conseqüentemente, uma maior colonização por parte das bactérias pertencentes ao género *Bifidobacterium*, que têm a capacidade de usar a lactose como fonte de energia. Assim, estas bactérias degradam a lactose em indivíduos que não têm essa capacidade, mas que, não obstante, continuam a consumi-la. Depreende-se, deste modo, que, em indivíduos que possuem o genótipo que lhes confere uma intolerância à lactose na idade adulta, a microbiota se organiza para conferir ao hospedeiro uma certa tolerância à mesma. Este é apenas um exemplo que demonstra a profunda ligação entre a genética do hospedeiro e a composição da microbiota (Cahana e Iraqi, 2020) (Spor, Koren e Ley, 2011) (Goodrich *et al.*, 2017).

2.3. A composição específica da microbiota e os seus enterótipos

A microbiota intestinal é composta por bactérias que pertencem a filos e géneros diferentes; os filos dominantes são Firmicutes e Bacteroidetes e os géneros principais são *Bacteroides*, *Prevotella* e *Ruminococcus*. Assim, tendo em conta a variação dos níveis dos três géneros principais, é possível definir três enterótipos diferentes, que correspondem a diferentes aglomerados e que são o resultado de uma composição microbiana equilibrada. Estes enterótipos não possuem uma composição fixa, mas podem ser usados para caracterizar e diferenciar microbiotas diferentes (Arumugam *et al.*, 2011) (Turnbaugh *et al.*, 2006).

O primeiro enterótipo é composto pelo género *Bacteroides*, que ocorre com o género *Parabacteroides*; este enterótipo obtém energia a partir da fermentação de proteínas e hidratos de carbono. O segundo enterótipo possui na sua constituição o género *Prevotella* em maior quantidade, ao qual se junta o género *Desulfovibrio*; estes dois géneros actuam em sinergia para degradar as glicoproteínas de mucina presentes na camada mucosa do intestino. Por fim, *Ruminococcus*, ocorrendo com o género *Akkermansia*, é o género que compõe o terceiro e mais frequente enterótipo; estes géneros têm a capacidade de degradar a mucina, de modo a utiliza-la como fonte de energia, e, tendo em conta a presença de transportadores de membrana nestes microrganismos, há a indicação de uma hidrólise eficiente da mucina e do *uptake* dos produtos resultantes (Arumugam *et al.*, 2011) (Turnbaugh *et al.*, 2006).

Os diferentes géneros de bactérias que compõem os enterótipos indicam que estes utilizam diferentes formas de obter energia a partir dos variados substratos fermentáveis que se podem encontrar no intestino. Evocando outra vantagem que a microbiota possui para o hospedeiro, menciona-se a produção de vitaminas. Embora esta produção esteja presente em todos os enterótipos, há aqueles que apresentam uma maior produção de determinadas vitaminas, sendo um exemplo o caso do primeiro enterótipo produzir uma maior quantidade de biotina e de riboflavina. Estas diferenças entre os enterótipos reflectem diferentes relações sinérgicas e simbióticas entre o hospedeiro e a microbiota intestinal (Arumugam *et al.*, 2011) (Turnbaugh *et al.*, 2006).

Surge assim a questão de como varia o estabelecimento dos diferentes enterótipos; verifica-se que este não se correlaciona com nenhuma característica única e específica do indivíduo, seja ela a idade ou o índice de massa corporal. Ao invés, supõe-se que uma complexa combinação de factores, entre eles a modulação pelo sistema imunitário, seja o responsável pelo estabelecimento de um determinado enterótipo (Arumugam *et al.*, 2011) (Turnbaugh *et al.*, 2006).

2.4. O estabelecimento temporal da microbiota: do nascimento à idade adulta

A compreensão da estabilidade da microbiota de um indivíduo ao longo do tempo é essencial para prever eventuais estados de doença, isto é, desvios à estabilidade temporal da microbiota. Verifica-se que a composição da microbiota permanece estável ao longo do tempo, se bem que esta estabilidade depende de inúmeros factores, como a dieta e o ambiente, cujas alterações podem levar a estados de disbiose, ou seja, a perda do equilíbrio da comunidade microbiana. Assim, torna-se necessário rever o estabelecimento inicial da microbiota no indivíduo humano, a partir do nascimento até à maturidade da microbiota (Pflughoeft e Versalovic, 2012) (Costello *et al.*, 2009) (Clemente *et al.*, 2012).

O momento do início da colonização microbiana do tracto gastrointestinal permanece um tópico em contestação. Existe a teoria que defende que o feto se desenvolve num ambiente asséptico e estéril no interior do útero; contudo, esta teoria tem vindo a ser refutada devido à detecção de componentes microbianos na placenta e no líquido amniótico. Outra teoria, que tem servido como agregadora das diversas teorias existentes, refere que partículas de origem microbiana podem ser transportadas pela placenta até vários locais do organismo do feto, pelo que assim pode haver um contributo para a preparação do desenvolvimento do sistema imunitário fetal (Senn *et al.*, 2020).

Há vários factores que influenciam o estabelecimento inicial da microbiota intestinal. O primeiro a ser mencionado refere-se à idade gestacional. Está bem documentado que os bebés prematuros têm um sistema imunitário que apresenta um menor número de leucócitos e de péptidos antibacterianos. Além disso, a prematuridade está associada a partos por cesariana, o que, por sua vez, está associado a um uso pré-natal de antibióticos. Por conseguinte, estes bebés manifestam um atraso no desenvolvimento da microbiota intestinal, apresentando um menor volume de bactérias, um menor número de bactérias comensais e um maior número de espécies patogénicas, como é o caso da *Clostridium difficile* (Senn *et al.*, 2020).

O segundo factor que interfere no desenvolvimento da microbiota é o método utilizado para realizar o parto. Durante o parto vaginal, o tracto gastrointestinal do bebé é colonizado por bactérias intestinais e vaginais provenientes da mãe. Estas bactérias produzem SCFA, que levam a uma diminuição do pH do lúmen, inibindo a colonização por bactérias patogénicas. Por outro lado, o parto por cesariana interrompe a transmissão microbiana entre mãe e filho, levando a que o tracto gastrointestinal seja colonizado por bactérias provenientes da pele da mãe e por bactérias que se encontrem no ambiente onde é realizado o parto.

Assim, há um atraso na colonização bacteriana do tracto gastrointestinal e há uma menor variedade de bactérias presentes no mesmo, havendo, por contraste, um aumento do número de bactérias patogénicas oportunistas, relacionadas com o ambiente hospitalar (Senn *et al.*, 2020).

Nos partos por cesariana verifica-se também que as mães demonstram uma menor taxa de amamentação, o que pode ser um factor que contribui para o desenvolvimento de disbiose. Está bem estabelecido que a amamentação reduz a mortalidade e morbidade infantil e contribui para a saúde da mãe. Os prebióticos são componentes importantes do leite materno que contribuem para o estabelecimento inicial da microbiota; tratam-se de componentes que não são digeridos por enzimas humanas, mas que podem ser metabolizados por certas bactérias, contribuindo para o seu crescimento, levando a efeitos positivos para o hospedeiro. Os oligossacarídeos do leite materno são prebióticos, que atingem o cólon incólumes, sendo digeridos por bactérias, e levam à produção de SCFA, que leva à diminuição do pH do lúmen, impedindo a colonização por bactérias patogénicas (Senn *et al.*, 2020).

Outros atributos da amamentação são um menor risco de obesidade e de desenvolver doenças atópicas. Apesar das fórmulas infantis utilizarem outros oligossacarídeos (derivados da frutose e da galactose), de modo a providenciar o mesmo benefício do que aqueles provenientes do leite materno, não têm a capacidade de levar a um desenvolvimento equivalente da microbiota intestinal. Após a introdução de alimentos sólidos, a diferença entre crianças que foram amamentadas e aquelas que não o foram torna-se cada vez menor, sendo que nesse momento a microbiota começa a assemelhar-se a uma microbiota adulta (Senn *et al.*, 2020).

Por fim, o último factor que tem um efeito significativo no desenvolvimento e estabelecimento inicial da microbiota é a utilização crescente de antibióticos. São várias as infecções que afectam o recém-nascido e que requerem a utilização de antibióticos de largo espectro. A utilização deste tipo de fármacos tem um efeito prejudicial no estabelecimento inicial da microbiota do recém-nascido e afecta de uma forma negativa o desenvolvimento do sistema imunitário. A utilização de antibióticos nesta faixa etária está associada a uma colonização tardia por bactérias comensais e a efeitos prejudiciais a longo prazo, como uma produção reduzida de vitaminas e uma maior incidência de doenças atópicas (Senn *et al.*, 2020).

Após o nascimento o tracto gastrointestinal dos recém-nascidos é aeróbico, levando ao aparecimento de bactérias anaeróbias facultativas. Estas bactérias utilizam o oxigénio presente e levam ao aparecimento de bactérias anaeróbias obrigatórias. A microbiota

estabiliza aos três anos de idade, assemelhando-se a uma microbiota adulta, permanecendo estável até uma idade avançada. Nos idosos, a microbiota sofre uma mudança em termos da proporção de certos géneros de bactérias presentes (uma maior proporção do género *Bacteroides* spp.). Nesta faixa etária verifica-se uma maior variabilidade em termos da mudança das proporções dos vários géneros presentes na microbiota. Estima-se que esta variação se possa dever a uma maior morbilidade que se verifica nestas idades e aos medicamentos administrados para as tratar (Senn *et al.*, 2020) (Palmer *et al.*, 2007) (Claesson *et al.*, 2011).

2.5. O efeito de vários factores na composição da microbiota

Para além dos factores supramencionados, existem outros que, ao longo do tempo, produzem um efeito marcado na composição da microbiota. Um desses factores é o efeito da dieta e do regime alimentar. Uma mudança na dieta leva a uma consequente mudança na composição da microbiota. Verifica-se também que diferentes indivíduos, com diferentes microbiotas, respondem de formas diferentes ao mesmo estímulo alimentar, uma vez que, variando a composição da microbiota, alteram-se também as capacidades metabólicas do hospedeiro. Trata-se de uma resposta personalizada, que depende de cada indivíduo. Uma dieta dita monótona não produz estabilidade na microbiota; ao invés, é a diversidade alimentar que induz esta estabilidade (Mousa, Chehadeh e Husband, 2022) (Johnson *et al.*, 2019) (Glassner, Abraham e Quigley, 2020) (Jayachandran, Chung e Xu, 2020).

O que se apura então é uma relação bidireccional. Os efeitos benéficos ou prejudiciais da dieta são mediados e veiculados pela microbiota. De igual forma, a dieta tem também o poder de modular a diversidade da microbiota, que, por sua vez, modula as funções imunológicas e metabólicas. É importante referir que micronutrientes como vitaminas e minerais também modulam a microbiota (Mousa, Chehadeh e Husband, 2022).

O *stress* é outro factor que tem um efeito profundo na microbiota. A exposição ao *stress* leva a uma remodelação da microbiota intestinal, conduzindo a uma maior susceptibilidade à doença. Este efeito decorre de uma diminuição da presença de bactérias com uma actividade anti-inflamatória, que, por conseguinte, leva a uma diminuição da produção de metabolitos com actividade anti-inflamatória, como é o caso dos SCFA. É importante notar também que elevados níveis de *stress* durante a gravidez estão associados a uma mudança na microbiota vaginal, mudança essa que é transmitida ao recém-nascido, que, da mesma forma, apresenta uma microbiota alterada, fazendo com que seja mais provável o desenvolvimento

de inflamação crónica ou alergias (Kelly *et al.*, 2015) (Zijlmans *et al.*, 2015) (Mousa, Chehadeh e Husband, 2022).

A utilização de fármacos é outro factor que afecta a composição da microbiota. Como já foi referido, a administração de antibióticos de largo espectro tem efeitos nefastos na composição da microbiota, efeitos esses que se podem repercutir durante meses ou anos. Mas outros fármacos também apresentam estes efeitos: inibidores da agregação plaquetária, antidepressivos, benzodiazepinas e inibidores da bomba de protões são alguns exemplos de fármacos que levam à alteração da microbiota intestinal (Mousa, Chehadeh e Husband, 2022) (Konstantinidis *et al.*, 2020).

Por fim, o último factor a ser mencionado que tem um efeito marcado na composição da microbiota é o estilo de vida dos indivíduos. O estilo de vida, contudo, é um termo que abrange várias escolhas de vida, como o tabagismo e a prática de exercício. Em primeiro lugar, vários estudos demonstram que a prática de exercício físico regular aumenta a diversidade da microbiota, com uma maior presença de bactérias que são consideradas saudáveis, como é o caso da *Roseburia hominis*. De seguida, o tabagismo é, como é evidente, algo prejudicial não só para o pulmão, mas também para a microbiota intestinal. Os inúmeros químicos presentes no fumo do tabaco alteram a composição desta microbiota, tornando o hospedeiro mais susceptível a contrair várias doenças como inflamações crónicas e infecções. Além disso, a microbiota dos fumadores possui uma menor diversidade, com alterações ao nível do metabolismo de xenobióticos e de hidratos de carbono (Dalton, Mermier e Zuhl, 2019) (Winglee *et al.*, 2017) (Mousa, Chehadeh e Husband, 2022).

2.6. Interações entre o sistema imunitário do hospedeiro e a microbiota

Verifica-se a existência de uma interligação profunda entre o sistema imunitário e a microbiota intestinal. Estudos recentes demonstram que tanto o sistema imunitário inato como adaptativo requerem uma interacção com a microbiota de modo a completar a sua formação e o seu desenvolvimento. Assim surge a questão: como é feito o reconhecimento das bactérias comensais e como é que se distinguem daquelas que são patogénicas? (Clemente *et al.*, 2012)

O sistema imunitário inato reconhece as bactérias residentes da microbiota através de estruturas presentes em várias linhagens de espécies bacterianas, como os componentes da parede celular bacteriana. Estas estruturas recebem o nome de padrões moleculares associados a agentes patogénicos (PAMPs – *Pathogen-associated Molecular Patterns*). As proteínas

das células imunes que reconhecem estas estruturas são os receptores do tipo Toll (TLR – *Toll-like Receptor*). Quando estes receptores não estão presentes, o sistema imune entérico não se desenvolve da forma correcta. É também através destes receptores que a microbiota intestinal exerce um papel importante na supressão da resposta inflamatória e na promoção da tolerância imunológica. Quanto ao sistema imunitário adaptativo, também este é modulado pela microbiota intestinal; como exemplo, observa-se um papel determinante na diferenciação de linfócitos T (Clemente *et al.*, 2012) (Hara *et al.*, 2006).

2.7. Visão aprofundada do efeito da utilização de antibióticos na microbiota

Ao longo das últimas décadas, o abuso da utilização de antibióticos levou ao surgimento de um grave problema de saúde pública: o aumento da prevalência de microrganismos que apresentam uma resistência crescente aos antibióticos. Este problema tem sido exacerbado devido ao lento ritmo do desenvolvimento de novos medicamentos. Este tipo de fármacos são usados não só na população humana, mas também na criação animal de modo a atingir um crescimento mais rápido dos mesmos; contudo, esta utilização leva à disseminação da resistência aos antibióticos não só nos alimentos produzidos, mas também no próprio ambiente (Clemente *et al.*, 2012) (Konstantinidis *et al.*, 2020) (Mousa, Chehadeh e Husband, 2022) (Patangia *et al.*, 2022).

A utilização de antibióticos leva a alterações na microbiota do hospedeiro ao seleccionar bactérias resistentes aos mesmos, aparecendo estas como microrganismos patogénicos oportunistas. Além disso, o consumo de antibióticos em baixas doses (e em doses subterapêuticas) está associado ao desenvolvimento de um quadro de disbiose, que promove efeitos negativos nos vários sistemas e funções do hospedeiro; a disbiose está associada a doenças inflamatórias e metabólicas, como obesidade, cancro e doenças auto-imunes (Konstantinidis *et al.*, 2020).

Após a utilização de antibióticos, há uma diminuição da diversidade que se verifica na microbiota, que permanece ao longo do tempo; outros efeitos a longo prazo constituem o desenvolvimento de condições alérgicas, como a asma, e obesidade. Os efeitos a curto prazo incluem, entre outros, diarreia e infecções por *Clostridium difficile*. A utilização de antibióticos leva a uma remodelação da microbiota do tracto gastrointestinal, fazendo com que esta seja menos resistente a colonizações por parte de microrganismos patogénicos; a redução ou eliminação de algumas espécies bacterianas providencia o espaço e os recursos necessários para o desenvolvimento e crescimento destas espécies patogénicas. Verifica-se uma perda de

equilíbrio que influencia o estado de saúde e a homeostasia do indivíduo. O crescimento desmesurado deste tipo de bactérias leva a alterações permanentes da microbiota (Clemente *et al.*, 2012) (Mousa, Chehadeh e Husband, 2022) (Konstantinidis *et al.*, 2020) (Artacho *et al.*, 2013) (Patangia *et al.*, 2022) (Vallianou *et al.*, 2021).

Os antibióticos correspondem a 80% dos medicamentos utilizados durante a gravidez, levando a que até 35% das mulheres sejam expostas aos mesmos durante a gravidez e durante o parto. A gravidez é caracterizada por mudanças intensas da microbiota intestinal, havendo um aumento significativo do aporte bacteriano. Uma das mudanças que ocorre consiste no aumento de *Proteobacteria* e *Actinobacteria* do primeiro ao terceiro trimestre. Como a microbiota intestinal é perturbada não só a curto prazo, como a longo termo, é necessário um cuidado especial na utilização destes fármacos na gravidez e nos recém-nascidos (Patangia *et al.*, 2022).

A utilização de antibióticos durante a gravidez leva a alterações não só na microbiota intestinal, mas também na microbiota vaginal, o que pode afectar a composição microbiana que é transmitida aos recém-nascidos. O tipo de antibiótico administrado constitui também um factor que determina quais as alterações que se verificam na microbiota da mulher grávida, alterações essas que podem determinar um maior risco no recém-nascido de desenvolver asma e alergias no seu futuro. A administração de antibióticos durante a amamentação leva de igual forma a alterações no leite materno, o que, por sua vez, também tem a sua influência no desenvolvimento da microbiota do recém-nascido (Patangia *et al.*, 2022).

Outra área na qual a utilização de antibióticos deve ser feita com o maior cuidado é no caso dos recém-nascidos prematuros, que com frequência são tratados com antibióticos devido ao seu frágil estado de saúde. Os efeitos deletérios consistem no estabelecimento de uma população bacteriana menos diversa, que apresenta uma maior quantidade de genes de resistência a antibióticos, e numa alteração dos membros dominantes da microbiota intestinal, o que pode levar a efeitos marcados no desenvolvimento imune e no metabolismo do recém-nascido (Patangia *et al.*, 2022) (Gasparrini *et al.*, 2019).

A administração de antibióticos conduz a um quadro de disbiose através do aumento de *Proteobacteria*, que são considerados patobiontes (microrganismos residentes que têm um potencial patogénico), e da redução de *Actinobacteria* e *Bacteroides*, considerados simbiossiontes. Esta disbiose resulta em várias síndromes metabólicas, incluindo a obesidade; esta doença metabólica está relacionada com uma redução da diversidade da microbiota intestinal, podendo ser provocada pela administração de antibióticos. Os mecanismos através dos quais

os antibióticos provocam um aumento de peso ainda não foram elucidados, mas já surgiram várias hipóteses: o incremento da capacidade das bactérias de extrair energia a partir de polissacarídeos indigeríveis, a redução das bactérias que protegem contra este aumento de peso, mudanças na lipogénese hepática, e a redução das defesas intestinais (redução da microbiota intestinal comensal e consequente redução da produção de péptidos antimicrobianos, permitindo a colonização por espécies patogénicas) (Vallianou *et al.*, 2021).

Estudos animais demonstram também que doses subterapêuticas de antibióticos resultam em alterações na microbiota intestinal bem como em aumento de peso. Há mais de 70 anos que são administrados antibióticos a animais de gado de modo a aumentar as suas probabilidades de sobrevivência, mas o objectivo principal é o aumento do seu peso. Deste modo, foi possível averiguar que a exposição a antibióticos no início da vida tem um efeito maior no aumento de peso do que a exposição tardia; verifica-se que esta exposição prematura leva a reduções de populações bacterianas específicas, o que está relacionado com um aumento do tecido adiposo. Extrapolando esta informação, conclui-se que a perda da diversidade da microbiota intestinal no início da vida tem o potencial de afectar a saúde metabólica do indivíduo e de ser um factor preponderante no estabelecimento da obesidade (Vallianou *et al.*, 2021).

3. O papel da disbiose da microbiota intestinal no estabelecimento de doença

A complexidade inerente ao processo de doença resulta na observação lógica de que é raro serem causadas por apenas um único factor. A compreensão da forma como todos os factores intervenientes interagem para induzir este processo é crucial de modo a se poder proceder a uma prevenção da mesma, bem como ao seu tratamento. O estabelecimento de um quadro de disbiose é um desses factores. A disbiose consiste na perda do equilíbrio da comunidade microbiana e qualquer redução funcional ou quantitativa da microbiota intestinal traduz-se numa alteração da resposta imune, num decréscimo da permeabilidade epitelial e numa perturbação da homeostasia intestinal. Deste modo, neste estado de desequilíbrio, há um comprometimento da diversidade natural da microbiota. Verifica-se também que na disbiose o mecanismo pelo qual é activada uma resposta imune contra microrganismos patogénicos é alterado, isto é, não há um reconhecimento correcto dos padrões moleculares dos diversos microrganismos, levando assim a uma inibição resposta imune e à progressão do processo de doença (Mishra, Bukavina e Ghannoum, 2021) (Iacob e Iacob, 2019).

A disbiose está associada a várias doenças, desde doenças auto-imunes e doenças metabólicas, até à malnutrição. Tendo iniciado com uma introdução ao conceito de microbiota intestinal e as suas particularidades num sistema saudável, afigura-se agora a necessidade de explorar alguns dos inúmeros estados de doença nos quais, cada vez mais, se descobre que a microbiota tem um importante papel (Neuman *et al.*, 2018).

3.1. Obesidade

A obesidade, em tempos considerada um problema apenas dos países ocidentais, tem vindo a tornar-se uma epidemia global e um grave problema de saúde pública, tendo em conta que a incidência da mesma continua a aumentar de forma alarmante; a prevalência da obesidade triplicou entre 1975 e 2016. Cerca de um terço da população mundial sofre de excesso de peso. E o que torna este problema grave ainda pior é a ligação da obesidade e do excesso de peso a um conjunto de outros riscos para a saúde, como é o caso da diabetes tipo 2, aterosclerose, problemas cardiovasculares e vários tipos de cancro. Os doentes obesos têm uma maior taxa de mortalidade e morbidade; um exemplo é o maior risco de ocorrerem complicações decorrentes da infecção por COVID-19 em doentes obesos (Geng *et al.*, 2022) (Petraroli *et al.*, 2021) (Liu *et al.*, 2021).

O consumo de uma dieta demasiado calórica, em conjunto com um estilo de vida sedentário, são os principais riscos para o desenvolvimento de um quadro de obesidade, bem

como as várias doenças associadas. O consumo de um excesso de lípidos resulta na sua acumulação no tecido adiposo subcutâneo e visceral; isto pode levar a uma incapacidade do tecido adiposo normal em armazenar energia sob a forma de triglicerídeos, fazendo com que este excesso de lípidos entre na circulação sanguínea, provocando o seu armazenamento em tecidos não adiposos (acumulação ectópica de lípidos) (Geng *et al.*, 2022) (Fan e Pedersen, 2021).

Além disso, o consumo de um regime alimentar deste tipo resulta no estabelecimento de disbiose da microbiota intestinal, sendo um factor para o desenvolvimento de obesidade. A composição da microbiota intestinal é influenciada pela dieta do hospedeiro. Uma dieta rica em lípidos leva a um aumento da ocorrência de fenómenos de endotoxémia e a uma redução da diversidade de bactérias. Há também uma tendência para o desenvolvimento de um desequilíbrio homeostático, levando a respostas inflamatórias, stress oxidativo e disfunção metabólica (Geng *et al.*, 2022).

Firmicutes e *Bacteroidetes* são dois grupos bacterianos que estão envolvidos na disbiose da microbiota intestinal e no desenvolvimento de obesidade. O rácio da presença destes dois grupos constitui por si só um enterótipo, que se verifica com frequência em doentes obesos: observa-se uma redução na abundância relativa de *Bacteroidetes*, o que contribui para uma produção excessiva de SCFA que, por conseguinte, leva a uma maior extracção de energia a partir da dieta (Petraroli *et al.*, 2021) (Fernandes *et al.*, 2014) (Liu *et al.*, 2021) (Yu *et al.*, 2021).

Quanto à sua composição específica, verifica-se uma diminuição de várias espécies na microbiota do doente obeso, como *Akkermansia* e *Faecalibacterium*; verifica-se também que maiores níveis de *Lactobacillus reuteri* estão associados à obesidade, levando a um aumento de peso, enquanto que *Bifidobacterium animalis* e outras espécies de *Lactobacillus* se encontram em maior quantidade nos indivíduos de peso normal. Estas diferenças de composição poderão servir de biomarcador para o diagnóstico precoce de diabetes *mellitus* tipo 2 em doentes de risco, visto que vários estudos demonstram que a microbiota tem também a capacidade de regular o metabolismo da glicose (Geng *et al.*, 2022).

A obesidade está ligada de uma forma intrínseca à disbiose da microbiota intestinal, que, por sua vez, resulta em mudanças profundas relativas à produção normal de metabolitos pelas espécies bacterianas que fazem parte desta comunidade. Os principais metabolitos que aqui estão em causa são os SCFA. O acetato, o propionato e o butirato constituem os principais SCFA no lúmen intestinal. O acetato, o mais abundante no sangue periférico, é um substrato da síntese de colesterol e tem a capacidade de induzir a adipogénese e de suprimir

o apetite através de mecanismos hipotalâmicos. O propionato, por sua vez, é um precursor da síntese proteica, da glicogénese e da lipogénese. Tem também a função de inibir a produção de ácidos gordos e de reduzir a inflamação intestinal. Por fim, o butirato consiste numa fonte de energia para as células epiteliais do cólon e regula a expressão dos seus genes (Geng *et al.*, 2022) (Petraroli *et al.*, 2021).

Os SCFA ligam-se a Receptores Acoplados a Proteínas G (GPCR), que estão envolvidos em vários mecanismos de sinalização celular, como o metabolismo dos lípidos, da glucose, e do colesterol. Uma indicação de que esta interacção entre os SCFA e os GPCR tem a capacidade de modular o nível de adiposidade dos tecidos do hospedeiro, mas também a sua tolerância à glucose, é que esta ligação permite estimular a produção de GLP-1 (glucagon-like peptide 1) a partir de células L enteroendócrinas. O GLP-1 é um factor chave na manutenção da homeostasia da glicémia, promovendo a secreção de insulina e a inibição da secreção de glucagon (Geng *et al.*, 2022) (Man *et al.*, 2020).

De igual forma, a ligação de SCFA a GPCR tem também a capacidade de regular a expressão de vários genes a nível transcricional em adipócitos, células β pancreáticas, células imunes e neurónios pertencentes ao sistema nervoso simpático. Deste modo há uma modulação da sensibilidade à insulina e uma promoção da utilização de energia nos outros tecidos, como nos músculos e no fígado (Petraroli *et al.*, 2021).

O aumento da concentração de SCFA no plasma sanguíneo, com a sua simultânea diminuição nas fezes, pode estar ligado à obesidade e a doenças metabólicas. Neste caso disfuncional, os SCFA têm a capacidade de induzir a lipogénese e de aumentar o armazenamento de triglicéridos através de várias vias metabólicas. A sua capacidade de supressão do factor FIAF (fasting-induced adipocyte factor) leva a uma redução da actividade da lipoproteína lípase (LPL). Sendo a LPL uma enzima que hidrolisa triglicéridos na corrente sanguínea, há assim uma maior concentração plasmática dos mesmos. Vários estudos demonstram também que o excesso de acetato contribui para o estabelecimento de um quadro de obesidade, ao servir de substrato para a lipogénese, dando origem a um excesso de ácidos gordos (Geng *et al.*, 2022) (Petraroli *et al.*, 2021).

O tecido adiposo não é apenas um local de armazenamento de energia, mas constitui também um órgão activo em termos metabólicos, envolvido na secreção de quimiocinas e de citocinas pró-inflamatórias, proporcionando a manutenção de um estado de inflamação crónica. Neste caso a microbiota intestinal desempenha um perigoso papel no que diz respeito à passagem de endotoxinas bacterianas através do epitélio intestinal. As endotoxinas

consistem em componentes da membrana externa de bactérias Gram negativo. Numa situação de obesidade a associação da inflamação com uma dieta rica em lípidos traduz-se em lise celular e em mudanças na permeabilidade da barreira intestinal promovendo a passagem destes componentes através do epitélio intestinal. Isto conduz à activação de várias vias metabólicas pró-inflamatórias, ao aumento do stress oxidativo e ao aumento da resistência à insulina em tecidos periféricos, como os músculos e o fígado (Alexander e Rietschel, 2001) (Petraroli et al., 2021).

Muito embora a microbiota possa ser um eixo importante no desenvolvimento de um quadro de obesidade, também existe a possibilidade de modular essa mesma comunidade de modo a tratar ou mesmo reverter o quadro descrito. Assim sendo, existem várias estratégias terapêuticas a implementar que poderão equilibrar a composição do mesmo. Em primeiro lugar, como a dieta tem um profundo impacto na composição da microbiota, esta intervenção deve ser a primeira e poderá ser a mais importante. Vários estudos demonstram que uma dieta baixa em calorias, hidratos de carbono ou lípidos leva a uma perda de peso que está associada a um aumento da diversidade da microbiota, levando, por sua vez, a uma redução da inflamação sistémica. A realização de exercício físico também é de extrema importância, pois tem também a capacidade de modular esta composição, aumentando o número de bactérias comensais (Geng et al., 2022).

Outra estratégia será a de alterar a microbiota de doentes obesos de modo a aumentar a população de microrganismos benéficos através do emprego de probióticos e prebióticos. Quanto aos probióticos, várias espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* exibem efeitos contrários à obesidade, reduzindo a resistência à insulina e melhorando a saciedade. Mais, espécies específicas de *Bifidobacterium* têm a capacidade de reduzir a inflamação, a acumulação de lípidos e os níveis plasmáticos de colesterol e triglicerídeos, através de uma redução da permeabilidade intestinal (Geng et al., 2022) (Petraroli et al., 2021).

Quanto aos prebióticos, a suplementação com fruto-oligossacarídeos e galacto-oligossacarídeos possibilita veicular os seus efeitos e permite o crescimento de espécies benéficas de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, incrementando a capacidade de barreira da mucosa intestinal e levando a uma redução significativa do peso corporal, bem como a uma melhoria da função da GLP-I, modificando a saciedade e a sensibilidade à insulina, levando a um restabelecimento da função normal da microbiota (Geng et al., 2022) (Petraroli et al., 2021).

Por fim, uma abordagem designada por Transplante da Microbiota Fecal (FMT – *Fecal Microbiota Transplant*) é utilizada para reconstruir a microbiota intestinal e, deste modo, tratar

várias doenças. Envolve transplantar o fluido fecal de pessoas saudáveis para o intestino de pessoas doentes. Contudo, a resposta a esta terapêutica é variável consoante os doentes. Vários estudos demonstram que a resposta à terapêutica se relaciona com o estado inicial da microbiota intestinal. De qualquer das formas, verifica-se um efeito benéfico e promissor, uma vez que resulta numa melhoria na sensibilidade à insulina, no controlo glicémico e na redução da inflamação crónica. Contudo, esta transferência tem mostrado não ter qualquer efeito na perda do excesso de peso. Mais estudos são necessário antes desta terapêutica se poder implementar em larga escala (Geng *et al.*, 2022) (Vrieze *et al.*, 2012) (Tkach *et al.*, 2022) (Waller, Leong e Paramsothy, 2022).

3.2. Artrite reumatóide

A artrite reumatóide é uma doença crónica, sistémica e auto-imune caracterizada por dor crónica, inflamação sinovial, danos nas articulações, produção de auto-anticorpos e incapacidade progressiva. Está também associada a várias outras comorbilidades, como doenças cardiovasculares, depressão e infecções. As razões pelas quais a artrite reumatóide se desenvolve ainda não foram elucidadas, mas verifica-se que existe uma interacção entre factores genéticos e ambientais; a perspectiva actual afirma que, em indivíduos com uma predisposição genética, um factor ambiental pode desencadear o despoletar da doença. O factor genético que apresenta o maior risco consiste na variação alélica no gene HLA-DRB1 que codifica a cadeia DRB1 na molécula do antigénio leucocitário humano (HLA – *Human Leucocyte Antigen*) (Reyes-Castillo *et al.*, 2021) (Li e Wang, 2021) (Konig, 2020).

O epitélio intestinal é composto por uma única camada de células com funções relacionadas com a absorção de nutrientes, distribuídas desde o duodeno até ao cólon. Já a submucosa alberga o tecido linfóide associado ao tracto gastrointestinal (GALT – *Gut-associated Lymphoid Tissue*), constituído por várias estruturas celulares, como nódulos linfáticos mesentéricos e folículos linfóides intestinais, bem como por células individuais, incluindo linfócitos intestinais intraepiteliais (IELs – *Intestinal Intraepithelial Lymphocytes*). O GALT é um factor chave na modulação da resposta imune, sendo capaz de montar uma defesa contra agentes patogénicos invasores enquanto mantém uma tolerância imunológica em relação aos antigénios de bactérias comensais (Reyes-Castillo *et al.*, 2021).

Há provas epidemiológicas e moleculares que confirmam que a microbiota intestinal tem um papel importante no desenvolvimento e regulação do sistema imunitário. Assim, o GALT é regulado de uma forma directa pela microbiota intestinal, através da sinalização de

receptores de reconhecimento de padrões (PRRs – *Pattern Recognition Receptors*), expressos por células do sistema imunitário que têm a capacidade de reconhecer PAMPs. Ou então de forma indirecta através da produção de vários metabolitos. Um exemplo são os SCFA, que produzem um forte efeito imunomodulador através da sua ligação a GPCR (Reyes-Castillo et al., 2021).

O tracto gastrointestinal é essencial para a manutenção da homeostasia, não só na resposta imune, mas também na prevenção da auto-imunidade. Os SCFA também desempenham um importante papel nesta área através da activação de factores de transcrição que regulam a expressão génica de linfócitos. Os SCFA modulam de igual forma a produção de citocinas, o desenvolvimento de linfócitos T reguladores induzíveis (iTregs – *inducible regulatory T cells*), estimulam a produção de péptidos antimicrobianos, promovem a integridade intestinal e induzem respostas anti-inflamatórias. Contudo, em certos casos também induzem a resposta contrária: respostas pró-inflamatórias (Reyes-Castillo et al., 2021).

Os factores genéticos, como o polimorfismo que se verifica no gene da HLA, bem como os restantes factores ambientais, como a dieta e a obesidade, têm efeitos profundos na composição da microbiota intestinal. Além disso, alguns dos fármacos empregues no tratamento da artrite reumatóide também têm o seu efeito na microbiota; assim, é possível que os seus efeitos terapêuticos possam ser mediados pela microbiota. Outro factor que poderá desencadear o processo auto-imune é a exposição constante da mucosa do tracto gastrointestinal a antigénios microbianos (Reyes-Castillo et al., 2021) (Li e Wang, 2021).

A maior parte dos doentes com artrite reumatóide apresentam disbiose intestinal, não só quando a doença já se encontra estabelecida, mas também em estados pré-clínicos da doença, envolvendo perda da diversidade da microbiota, alteração do perfil funcional e proliferação de bactérias específicas. Há muito tempo que infecções bacterianas têm sido associadas com esta doença, sendo que os microrganismos associados às mesmas incluem *Porphyromonas gingivalis*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus pyogenes* e espécies de *Mycobacterium*. Verificam-se também alterações quantitativas em várias outras espécies e géneros, incluindo *Clostridium perfringens*, *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Collinsella* e *Eggerthella*. Assim, há a forte indicação de que a disbiose desempenha um papel chave nos estados iniciais do desenvolvimento de artrite reumatóide e na manutenção da inflamação crónica que lhe está associada (Reyes-Castillo et al., 2021) (Li e Wang, 2021) (Zaiss et al., 2021).

Outra alteração consiste na proliferação de *Bacillus* e *Lactobacillus*. Um aumento de *Lactobacillus salivarius* foi detectado em amostras intestinais e a sua abundância está relacionada

com a severidade da doença. Contudo, o papel destas bactérias no desenvolvimento de artrite reumatóide tem de ser reavaliado, uma vez que este género é comensal e encontra-se distribuído pelo epitélio intestinal. Mais, espécies de *Lactobacillus* também são administradas como probióticos; verifica-se que a suplementação com *L. casei* e *L. acidophilus* leva a uma diminuição da inflamação. No entanto, a suplementação com outras espécies de *Lactobacillus*, como *L. rhamnosus* e *L. reuteri*, não teve qualquer efeito clínico. Os efeitos dos probióticos aparentam assim ser específicos de cada espécie (Reyes-Castillo et al., 2021).

É essencial distinguir as alterações à microbiota que estão associadas a etapas pré-clínicas da doença das modificações que podem ocorrer quando a artrite reumatóide já se encontra estabelecida, isto é, quando os processos inflamatórios e os tratamentos farmacológicos podem influenciar a composição da microbiota intestinal. Durante a fase pré-clínica ocorrem mudanças substanciais na composição da microbiota intestinal: uma redução da representação do filo Bacteroidetes e uma maior representação de Firmicutes e Proteobacteria (Zaiss et al., 2021).

Os mecanismos através dos quais infecções ou a disbiose da microbiota intestinal podem levar a fenómenos de auto-imunidade ou à progressão da artrite reumatóide são numerosos e incluem, entre outros, a estimulação de células apresentadoras de antígenos (APC – *Antigen Presenting Cell*) através da activação de TLRs e receptores do tipo NOD (NLRs – *Nod-like Receptors*), a modificação de autoantígenos, o mimetismo entre os epítopos microbianos e os do hospedeiro e mudanças na permeabilidade da mucosa intestinal (Reyes-Castillo et al., 2021) (Li e Wang, 2021) (Zaiss et al., 2021).

A citrulinização, que consiste na conversão de arginina em citrulina, é um processo chave na patogénese da artrite reumatóide. A produção de anticorpos contra péptidos ou proteínas citrulinadas (ACPAs – *Antibodies Against Citrullinated Peptides or Proteins*) pode ocorrer em estados pré-clínicos da doença. Esta modificação é mediada por enzimas designadas por peptidilarginina deiminases (PADs – *Peptidylarginine Deiminases*) e ocorre durante vários processos fisiológicos normais, como a diferenciação celular, a apoptose e a expressão génica. Contudo, em certas ocasiões, como nos casos em que ocorrem danos na membrana celular, fomentados por diversos factores, como o tabagismo, pode haver um aumento anormal da citrulinização de proteínas (hipercitrulinização), levando à formação de ACPAs ao gerar novos epítopos para os quais a tolerância de linfócitos T e B não foi garantida (Reyes-Castillo et al., 2021) (Zaiss et al., 2021).

Contudo, a hipercitrulinação também pode ter a sua causa em várias bactérias pertencentes à microbiota intestinal; vários estudos demonstram que a disbiose ocorre mais com mais frequência em doentes que se apresentam positivos para a presença de ACPAs. Estas bactérias promovem este fenómeno de várias formas: em primeiro lugar, a expressão de enzimas com uma função catalítica semelhante às PAD leva à citrulinação de antígenos tanto do hospedeiro como microbianos; esta citrulinação pode evocar uma resposta imunitária que conduz a uma reacção cruzada com péptidos do hospedeiro, levando a perda de tolerância e à produção de ACPA. Em segundo lugar, a hipercitrulinação de proteínas pode ocorrer através da formação de toxinas bacterianas que levam à perfuração da membrana de neutrófilos, induzindo a sobre-expressão das PAD (Reyes-Castillo *et al.*, 2021) (Zaiss *et al.*, 2021).

Os ACPAs produzidos podem, posteriormente, contribuir para a patogenicidade e para o desenvolvimento de artrite reumatóide em doentes com uma predisposição genética, através da estimulação da produção de TNF- α (*Tumor Necrosis Factor*) por macrófagos, mediada através da produção de complexos imunes, exacerbando assim o processo inflamatório da membrana sinovial (Li e Wang, 2021) (Reyes-Castillo *et al.*, 2021).

O género *Prevotella*, e em particular a espécie *Prevotella copri*, são importantes no desenvolvimento da artrite reumatóide. O aumento da sua expressão está correlacionado com uma redução da proporção de *Bacteroides* spp.. Um mecanismo através do qual a *Prevotella copri* pode contribuir para a patogénese da artrite reumatóide é mediante a indução de uma resposta pró-inflamatória. Péptidos bacterianos derivados deste microrganismo ligam-se a células mononucleares de modo a induzir uma resposta inflamatória. Foram também detectados anticorpos IgA e IgG anti-*Prevotella copri* não só em doentes com artrite reumatóide estabelecida, mas também em doentes que mostram os sinais iniciais da doença; os níveis destes anticorpos estão relacionados com níveis aumentados de ACPAs e com a presença de DNA deste microrganismo no fluido sinovial (Reyes-Castillo *et al.*, 2021) (Zaiss *et al.*, 2021) (Li e Wang, 2021).

Os epítomos pertencendo a esta bactéria exibem um mimetismo molecular com um auto-antígeno encontrado nas articulações de doentes com artrite reumatóide. Tanto os péptidos microbianos como aqueles provenientes do hospedeiro têm a capacidade de se ligar a moléculas HLA-SA e têm a capacidade de activar uma resposta imunitária envolvendo linfócitos T e B. Assim, especula-se que os linfócitos T são activados na mucosa intestinal após o reconhecimento de epítomos provenientes da *Prevotella copri*, migrando em seguida para as articulações do hospedeiro (onde há uma elevada expressão de auto-antígenos semelhantes), havendo assim uma reacção cruzada que leva à artrite reumatóide. Deste modo, verifica-se

uma ligação entre a resposta imunitária na mucosa intestinal e nas articulações (Reyes-Castillo *et al.*, 2021).

Outro mecanismo através do qual alterações da microbiota intestinal podem levar à auto-imunidade ou à progressão da doença é através da modulação da permeabilidade intestinal. A perda da integridade da barreira permite a translocação de antígenos bacterianos para a circulação sistêmica, levando a respostas inflamatórias noutros locais do organismo. Há sinais que demonstram que esta perturbação da homeostasia intestinal ocorre muito antes do estabelecimento da artrite reumatóide. O mecanismo principal para a perda desta integridade é um aumento da produção de zonulina, a reguladora principal da integridade das *tight junctions* do epitélio intestinal; estas estruturas são essenciais na regulação do tráfego de moléculas através do epitélio intestinal. Uma concentração elevada de zonulina está associada ao despoletar de doenças auto-imunes: a zonulina leva a um aumento da permeabilidade intestinal ao causar a desarticulação das proteínas ZO1 e ocludina do complexo das *tight junctions*. O sinal para uma maior libertação desta molécula a partir de células epiteliais surge, entre outros, a partir da desregulação da microbiota (Reyes-Castillo *et al.*, 2021) (Zaiss *et al.*, 2021) (Fasano, 2012).

O diagnóstico precoce de artrite reumatóide é de extrema importância uma vez que permite a implementação de estratégias terapêuticas que visam evitar danos a longo termo das articulações. Deste modo, a utilização de alterações na microbiota intestinal como biomarcador para a detecção precoce de artrite reumatóide é um campo recente e promissor. Algumas bactérias, devido à sua relação com os parâmetros clínicos da artrite reumatóide, apresentam um elevado potencial para este efeito (Reyes-Castillo *et al.*, 2021).

A presença de *Prevotella-2* está correlacionada com níveis aumentados de proteína C reactiva, um biomarcador de inflamação. E doentes com artrite reumatóide que apresentam elevados níveis de citocinas inflamatórias, como TNF- α e IL-17, têm uma maior abundância de *Collinsella* e *Akkermansia* e menores níveis de *Bifidobacterium* (Reyes-Castillo *et al.*, 2021) (Jones, Mülle e Pacifici, 2018).

Existem várias estratégias que permitem a modulação da microbiota com vista a melhorar os sintomas da artrite reumatóide. Uma dessas estratégias consiste na utilização de probióticos. Apesar da evidência ser reduzida, devido ao reduzido número de estudos realizados, estes mostram que a suplementação com várias espécies de *Lactobacillus*, como *L. rhamnosus* GR-1 e *L. reuteri* RC-14, levam a uma redução significativa dos biomarcadores

inflamatórios e perfis metabólicos de doentes com artrite reumatóide (Reyes-Castillo *et al.*, 2021).

Apesar da suplementação com probióticos ser considerada segura, é necessária mais investigação de modo a perceber quais as espécies mais adequadas e se esta suplementação tem algum efeito nas comorbilidades que a artrite reumatóide acarreta, como depressão, infecções e alterações metabólicas. Por fim, é necessária uma caracterização das estirpes que são vantajosas e daquelas que são prejudiciais, uma vez que, dentro da mesma espécie, existem ambos os casos (Reyes-Castillo *et al.*, 2021).

Quanto à dieta, verifica-se que um regime alimentar consistindo num elevado aporte de gorduras saturadas promove uma maior permeabilidade intestinal, permitindo a translocação de componentes bacterianos pró-inflamatórios para a corrente sanguínea. Na obesidade o tecido adiposo produz citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-6, que podem contribuir para a patogénese da artrite reumatóide, aumentando a resposta inflamatória, acelerando as alterações metabólicas e promovendo o desenvolvimento de várias comorbilidades (Reyes-Castillo *et al.*, 2021).

No sentido de utilizar a dieta como forma de melhorar os sintomas da artrite reumatóide, há vários estudos que demonstram que uma suplementação com alimentos ricos em fibra promove a formação de SCFA pela microbiota intestinal, que têm propriedades anti-inflamatórias, levando assim à redução de marcadores de inflamação crónica. Assim sendo, verifica-se que intervenções na dieta permitem não só restabelecer a microbiota intestinal ao seu estado normal, mas também a melhoria do perfil metabólico dos doentes com artrite reumatóide e, deste modo, reduzir o risco de doenças cardiovasculares, que constituem uma das maiores comorbilidades da artrite reumatóide (Reyes-Castillo *et al.*, 2021).

Quanto aos fármacos utilizados, as alterações associadas à artrite reumatóide que se verificam na microbiota intestinal fazem com que seja colocada em questão a terapêutica farmacológica instituída no tratamento da artrite reumatóide. Verifica-se que vários fármacos anti-reumáticos podem perturbar a composição da microbiota através da modulação da função imunológica do hospedeiro e ao actuarem como xenobióticos no metabolismo das células microbianas. Além disso, a utilização de uma terapêutica antibiótica nesta doença assenta na teoria de que haveria um factor infeccioso envolvido no seu despoletar. Contudo, a eficácia de antibióticos como a Minociclina relaciona-se, ao invés, com o efeito anti-inflamatório inerente às tetraciclinas. Tendo em conta a influência da microbiota na inflamação que se

observa na artrite reumatóide, é necessário colocar em causa o benefício de uma terapêutica antibiótica deste género (Zaiss *et al.*, 2021).

4. Pharmacomicrobiomics

A resposta individual a um determinado fármaco varia entre indivíduos. Esta heterogeneidade interindividual ocorre em termos de eficácia e toxicidade e constitui um problema de saúde pública, não só porque afecta a saúde do doente, mas também porque consiste num problema clínico e económico. Além desta variabilidade na resposta farmacológica, muitos são os doentes que sofrem de reacções adversas ao medicamento (RAM). Assim sendo, é importante determinar a forma como se poderá determinar a resposta provável do doente a um medicamento específico, bem como aumentar eficácia do fármaco e reduzir o risco de ocorrência de RAMs (Doestzada *et al.*, 2018).

Os factores genéticos, por si só, são insuficientes para explicar esta grande variabilidade. Assim, verifica-se que a microbiota intestinal também contribui para a resposta do indivíduo aos fármacos; a comunidade microbiana intestinal pode modificar a farmacocinética e a farmacodinâmica de um fármaco de forma directa, actuando sobre o fármaco, ou de forma indirecta, alterando o metabolismo ou o sistema imunitário do indivíduo (Doestzada *et al.*, 2018).

O termo farmacomicrobiómica (pharmacomicrobiomics) é um termo recente e serve para descrever a influência da variação e da composição da microbiota na acção e toxicidade dos fármacos. Com o reconhecimento crescente de que a microbiota intestinal actua como um segundo e complementar genoma, este termo deriva da farmacogenómica (Doestzada *et al.*, 2018) (Weersma, Zhernakova e Fu, 2020).

A administração oral de fármacos faz com que os mesmos passem através do tracto gastrointestinal superior e do estômago e cheguem até ao cólon, onde encontram uma grande e diversa comunidade microbiana. Os fármacos podem alterar o microambiente intestinal, o metabolismo microbiano, e o respectivo crescimento, modificando assim a sua composição e função. De forma inversa, a microbiota também pode participar no metabolismo dos fármacos. Contudo, as modificações químicas que as bactérias exercem sobre os fármacos são diferentes daquelas que ocorrem através dos processos de metabolismo hepático; as primeiras conduzem reacções redutivas e hidrolíticas, enquanto os segundos consistem em reacções oxidativas e conjugativas. Isto traduz-se numa complexidade adicional, uma vez que o

metabolismo de fármacos no lúmen intestinal pela respectiva microbiota pode fazer com que possam sofrer um novo metabolismo (Doestzada *et al.*, 2018).

Os efeitos de um fármaco na composição da microbiota podem contribuir para os efeitos farmacológicos desse mesmo fármaco ou, por outro lado, podem levar a efeitos prejudiciais para a microbiota. Para além dos antibióticos, que já foram referidos, existem outros medicamentos que provocam alterações perceptíveis na microbiota intestinal. Dois dos mais estudados são os inibidores da bomba de prótons e a metformina.

Os inibidores da bomba de prótons são dos medicamentos mais utilizados, dada a sua eficácia e o seu perfil de segurança. São usados para o tratamento do refluxo gastroesofágico e úlceras pépticas. O seu mecanismo de acção é independente do pH, o que leva a que possam provocar alterações na microbiota de diversas secções do tracto gastrointestinal. À medida que reduzem a acidez no estômago, começa a ocorrer uma colonização do mesmo por microrganismos presentes na cavidade oral; isto ocorre devido a uma redução da função barreira do estômago, o que se traduz na desvantagem de aumentar o risco de infecções entéricas e de acelerar o processo de senescência de células pertencentes ao endotélio intestinal. Além disso, levam a uma redução da diversidade da microbiota intestinal e a mudanças na composição da mesma: verifica-se um aumento das famílias Enterobacteriaceae e uma diminuição de Bifidobacteriaceae. Por fim, o efeito negativo sobre a microbiota que se observa é independente do medicamento utilizado (dentro da mesma classe), já que Omeprazol, Esomeprazol e Pantoprazol apresentam os mesmos efeitos (Doestzada *et al.*, 2018) (Weersma, Zhernakova e Fu, 2020).

Já a metformina, utilizada no tratamento da diabetes tipo II, não inibe a gliconeogénese hepática e teoriza-se que alguns dos seus efeitos benéficos possam ser mediados pela microbiota intestinal. A sua administração resulta em mudanças na composição da microbiota, verificando-se um aumento da abundância de *Escherichia coli* e uma redução concomitante de *Intestinibacter*. Através da realização de vários estudos observa-se também que a microbiota intestinal, após o tratamento com metformina, tem um efeito directo na redução da glicémia. Especula-se que este efeito possa ser mediado pelo efeito do fármaco nas bactérias que produzem SCFA (Wu *et al.*, 2017) (Weersma, Zhernakova e Fu, 2020) (Doestzada *et al.*, 2018).

Da mesma forma que os fármacos afectam a composição da microbiota intestinal, também esta tem a capacidade de fazer sentir o seu efeito na actividade e toxicidade de vários fármacos. Através do estudo do metabolismo microbiano de vários fármacos, foram desenvolvidos pró-fármacos que dependem desse metabolismo para surtir o seu efeito.

Contudo, o inverso também ocorre; a microbiota tem a capacidade de inactivar um fármaco, como é o exemplo da Digoxina: em certos doentes, possuidores de uma estirpe específica de *Eggerthella lenta*, a Digoxina é inactivada. Quanto à toxicidade, esta ocorre quando a transformação bacteriana de fármacos leva à produção de metabolitos tóxicos e nocivos para o hospedeiro (Doestzada *et al.*, 2018).

Além dos efeitos directos descritos, a microbiota também tem a capacidade de afectar a resposta terapêutica de uma forma indirecta. Um exemplo é a biodisponibilidade da Sinvastatina, um fármaco utilizado no tratamento da hiperlipidémia; concentrações plasmáticas elevadas de Sinvastatina estão correlacionadas com a síntese de ácidos biliares secundários pela microbiota. É teorizado que estes ácidos biliares secundários, sendo importantes para a absorção de nutrientes no intestino, tenham um efeito na absorção do fármaco e na sua biodisponibilidade (Doestzada *et al.*, 2018).

Conclui-se que a presença da microbiota intestinal permite expandir o conjunto de reacções metabólicas que o organismo humano pode efectuar sobre o tratamento farmacológico ao qual é submetido. De igual forma, o metabolismo farmacológico não é um processo simples, envolvendo a genética do hospedeiro, a microbiota intestinal e factores exógenos, como a dieta (que, por sua vez, influencia a composição da microbiota). Assim sendo, a farmacomicrobiómica tem dois objectivos principais: combinar os perfis genéticos e microbiómicos pessoais de modo a prever a resposta farmacológica de um determinado indivíduo e modular a composição da microbiota de modo a melhorar a eficácia farmacológica. De modo a serem atingidos estes dois objectivos, ainda é necessária muita investigação, não só para perceber de forma detalhada os mecanismos por detrás da microbiota e do metabolismo, bem como da acção farmacológica, mas também para desenvolver os meios necessários para realizar esta testagem e leva-la até ao cidadão comum (Doestzada *et al.*, 2018).

5. Conclusão

A microbiota é um dos sistemas mais complexos do organismo humano. O seu estado normal traduz-se em inúmeras funções benéficas e indispensáveis para o ser humano, desde a digestão de polissacarídeos vegetais que de outro modo seriam indigeríveis até à criação de uma barreira que protege o organismo da invasão de microrganismos patogénicos. Verifica-se também que a genética do hospedeiro tem um efeito profundo na sua composição e que a microbiota, tal como o seu hospedeiro, sofre um processo de evolução, desde o nascimento até à idade adulta.

Contudo, desvios ao seu estado basal, conduzindo a um processo de disbiose, instigam um desequilíbrio homeostático, provocando o desenvolvimento de várias doenças. O consumo desenfreado de uma dieta ocidental leva a alterações na composição da microbiota, ocasionando o desenvolvimento de diabetes tipo II. E, em indivíduos com uma predisposição genética, mudanças na abundância relativa de várias espécies que pertencem à microbiota intestinal podem originar o despoletar da artrite reumatóide.

Por fim, um novo campo de investigação, designado por farmacomicrobiómica, indaga acerca da influência da microbiota intestinal na farmacologia de determinados fármacos, com a esperança de, no futuro, prever a reacção do organismo humano a um determinado fármaco e de modular a composição da microbiota intestinal de modo a melhorar a eficácia da terapêutica farmacológica.

Concluindo, comprova-se que a microbiota é um sistema essencial na manutenção da homeostasia do organismo humano. E de forma a progredir no conhecimento deste organismo, com o objectivo de prever e tratar as várias doenças do mesmo, torna-se imperativo conhecer esse sistema de uma forma aprofundada. Ao longo dos últimos anos a investigação nesta área tem vindo a sofrer um aumento exponencial. E assim terá de continuar, para que seja possível uma melhor compreensão da relação entre a microbiota e a saúde humana e para que esse conhecimento seja aplicado na prática clínica.

Referências Bibliográficas

1. ALEXANDER, C.; RIETSCHER, E. T. - Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. **Journal of endotoxin research**. United States. ISSN 0968-0519 (Print). 7:3 (2001) 167–202.
2. ARTACHO, Alejandro *et al.* - Differential Effects of Antibiotic Therapy on the Structure and Function of Human Gut Microbiota. 8:11 (2013). doi: 10.1371/journal.pone.0080201.
3. ARUMUGAM, Manimozhiyan *et al.* - Enterotypes of the human gut microbiome. **Nature**. ISSN 14764687. 473:7346 (2011) 174–180. doi: 10.1038/nature09944.
4. CAHANA, Inbal; IRAQI, Fuad A. - Impact of host genetics on gut microbiome: Take-home lessons from human and mouse studies. **Animal Models and Experimental Medicine**. ISSN 2576-2095. 3:3 (2020) 229–236. doi: 10.1002/ame2.12134.
5. CLAESSEON, Marcus J. *et al.* - Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. ISSN 10916490. 108:SUPPL. 1 (2011) 4586–4591. doi: 10.1073/pnas.1000097107.
6. CLEMENTE, Jose C. *et al.* - The impact of the gut microbiota on human health: An integrative view. **Cell**. ISSN 10974172. 148:6 (2012) 1258–1270. doi: 10.1016/j.cell.2012.01.035.
7. COSTELLO, Elizabeth K. *et al.* - Bacterial community variation in human body habitats across space and time. **Science**. ISSN 00368075. 326:5960 (2009) 1694–1697. doi: 10.1126/science.1177486.
8. CRYAN, John F.; DINAN, Timothy G. - Mind-altering microorganisms: The impact of the gut microbiota on brain and behaviour. **Nature Reviews Neuroscience**. ISSN 1471003X. 13:10 (2012) 701–712. doi: 10.1038/nrn3346.
9. DALTON, Alyssa; MERMIER, Christine; ZUHL, Micah - Exercise influence on the microbiome–gut–brain axis. **Gut Microbes**. ISSN 19490984. 10:5 (2019) 555–568. doi: 10.1080/19490976.2018.1562268.
10. DOESTZADA, Marwah *et al.* - Pharmacomicrobiomics: a novel route towards personalized medicine? **Protein and Cell**. ISSN 16748018. 9:5 (2018) 432–445. doi: 10.1007/s13238-018-0547-2.
11. FAN, Yong; PEDERSEN, Oluf - Gut microbiota in human metabolic health and disease.

- Nature Reviews Microbiology**. ISSN 17401534. 19:1 (2021) 55–71. doi: 10.1038/s41579-020-0433-9.
12. FASANO, Alessio - Intestinal permeability and its regulation by zonulin: diagnostic and therapeutic implications. **Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association**. ISSN 1542-7714 (Electronic). 10:10 (2012) 1096–1100. doi: 10.1016/j.cgh.2012.08.012.
 13. FERNANDES, J. *et al.* - Adiposity, gut microbiota and faecal short chain fatty acids are linked in adult humans. **Nutrition & Diabetes**. ISSN 2044-4052. 4:6 (2014) e121–e121. doi: 10.1038/nutd.2014.23.
 14. GASPARRINI, Andrew J. *et al.* - Persistent metagenomic signatures of early-life hospitalization and antibiotic treatment in the infant gut microbiota and resistome. **Nature Microbiology**. ISSN 2058-5276. 4:12 (2019) 2285–2297. doi: 10.1038/s41564-019-0550-2.
 15. GENG, Jiafeng *et al.* - The links between gut microbiota and obesity and obesity related diseases. **Biomedicine & pharmacotherapy**. France. ISSN 1950-6007 (Electronic). 147:December 2021 (2022) 112678. doi: 10.1016/j.biopha.2022.112678.
 16. GILL, Steven R. *et al.* - Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. **Science**. ISSN 00368075. 312:5778 (2006) 1355–1359. doi: 10.1126/science.1124234.
 17. GLASSNER, Kerri L.; ABRAHAM, Bincy P.; QUIGLEY, Eamonn M. M. - The microbiome and inflammatory bowel disease. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**. ISSN 10976825. 145:1 (2020) 16–27. doi: 10.1016/j.jaci.2019.11.003.
 18. GOMAA, Eman Zakaria - Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**. ISSN 15729699. 113:12 (2020) 2019–2040. doi: 10.1007/s10482-020-01474-7.
 19. GOODRICH, Julia K. *et al.* - The Relationship between the Human Genome and Microbiome Comes into View. **Annual Review of Genetics**. ISSN 15452948. 51:September (2017) 413–433. doi: 10.1146/annurev-genet-110711-155532.
 20. HARA, Ann M. O. *et al.* - The gut flora as a forgotten organ. **EMBO reports**. ISSN 1469-221X. 7:7 (2006) 688–693. doi: 10.1038/sj.embor.7400731.
 21. HASAN MOHAJERI, M. *et al.* - Relationship between the gut microbiome and brain function. **Nutrition Reviews**. ISSN 17534887. 76:7 (2018) 481–496. doi:

- 10.1093/nutrit/nuy009.
22. IACOB, Simona; IACOB, Diana Gabriela - Infectious Threats, the Intestinal Barrier, and Its Trojan Horse: Dysbiosis. **Frontiers in Microbiology**. ISSN 1664-302X. 10:August (2019) 1–17. doi: 10.3389/fmicb.2019.01676.
 23. JAYACHANDRAN, Muthukumaran; CHUNG, Stephen Sum Man; XU, Baojun - A critical review of the relationship between dietary components, the gut microbe *Akkermansia muciniphila*, and human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. ISSN 15497852. 60:13 (2020) 2265–2276. doi: 10.1080/10408398.2019.1632789.
 24. JOHNSON, Abigail J. *et al.* - Daily Sampling Reveals Personalized Diet-Microbiome Associations in Humans. **Cell Host and Microbe**. ISSN 19346069. 25:6 (2019) 789–802.e5. doi: 10.1016/j.chom.2019.05.005.
 25. JONES, Rheinallt M.; MULLE, Jennifer G.; PACIFICI, Roberto - Osteomicrobiology: The influence of gut microbiota on bone in health and disease. **Bone**. United States. ISSN 1873-2763 (Electronic). 115:2018) 59–67. doi: 10.1016/j.bone.2017.04.009.
 26. KARCZEWSKI, Jurgen *et al.* - Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. **American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology**. ISSN 01931857. 298:6 (2010) 851–859. doi: 10.1152/ajpgi.00327.2009.
 27. KELLY, John R. *et al.* - Breaking down the barriers: The gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. **Frontiers in Cellular Neuroscience**. ISSN 16625102. 9:OCT (2015). doi: 10.3389/fncel.2015.00392.
 28. KONIG, Maximilian F. - The microbiome in autoimmune rheumatic disease. **Best Practice and Research: Clinical Rheumatology**. ISSN 15321770. 34:1 (2020) 1–26. doi: 10.1016/j.berh.2019.101473.
 29. KONSTANTINIDIS, Theocharis *et al.* - Effects of antibiotics upon the gut microbiome: A review of the literature. **Biomedicines**. ISSN 22279059. 8:11 (2020) 1–15. doi: 10.3390/biomedicines8110502.
 30. LI, Mingxin; WANG, Fang - Role of Intestinal Microbiota on Gut Homeostasis and Rheumatoid Arthritis. **Journal of Immunology Research**. ISSN 23147156. 2021:2021). doi: 10.1155/2021/8167283.
 31. LIU, Bing-Nan *et al.* - Gut microbiota in obesity. **World journal of gastroenterology**. ISSN 2219-2840 (Electronic). 27:25 (2021) 3837–3850. doi: 10.3748/wjg.v27.i25.3837.

32. MAN, Andy W. C. *et al.* - Involvement of Gut Microbiota, Microbial Metabolites and Interaction with Polyphenol in Host Immunometabolism. **Nutrients**. ISSN 2072-6643. 12:10 (2020). doi: 10.3390/nu12103054.
33. MISHRA, Kirtishri; BUKAVINA, Laura; GHANNOUM, Mahmoud - Symbiosis and Dysbiosis of the Human Mycobiome. **Frontiers in Microbiology**. ISSN 1664302X. 12:September (2021) 1–15. doi: 10.3389/fmicb.2021.636131.
34. MOUSA, Walaa K.; CHEHADEH, Fadia; HUSBAND, Shannon - Recent Advances in Understanding the Structure and Function of the Human Microbiome. **Frontiers in Microbiology**. ISSN 1664302X. 13:February (2022). doi: 10.3389/fmicb.2022.825338.
35. NEUMAN, Hadar *et al.* - Antibiotics in early life: dysbiosis and the damage done. **FEMS microbiology reviews**. ISSN 15746976. 42:4 (2018) 489–499. doi: 10.1093/femsre/fuy018.
36. PALMER, Chana *et al.* - Development of the human infant intestinal microbiota. **PLoS Biology**. ISSN 15449173. 5:7 (2007) 1556–1573. doi: 10.1371/journal.pbio.0050177.
37. PATANGIA, Dharti V. *et al.* - Impact of antibiotics on the human microbiome and consequences for host health. **MicrobiologyOpen**. ISSN 2045-8827. 11:1 (2022) 1–23. doi: 10.1002/mbo3.1260.
38. PETRAROLI, Maddalena *et al.* - Gut Microbiota and Obesity in Adults and Children: The State of the Art. **Frontiers in pediatrics**. ISSN 2296-2360 (Print). 9:March (2021) 657020. doi: 10.3389/fped.2021.657020.
39. PFLUGHOEFT, Kathryn J.; VERSALOVIC, James - Human microbiome in health and disease. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**. ISSN 15534006. 7:2012) 99–122. doi: 10.1146/annurev-pathol-011811-132421.
40. RAVEL, Jacques *et al.* - Vaginal microbiome of reproductive-age women. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. ISSN 10916490. 108:SUPPL. 1 (2011) 4680–4687. doi: 10.1073/pnas.1002611107.
41. REYES-CASTILLO, Zyanya *et al.* - Troublesome friends within us: the role of gut microbiota on rheumatoid arthritis etiopathogenesis and its clinical and therapeutic relevance. **Clinical and Experimental Medicine**. ISSN 15919528. 21:1 (2021) 1–13. doi: 10.1007/s10238-020-00647-y.
42. RINNINELLA, Emanuele *et al.* - Food Components and Dietary Habits: Keys for a Healthy Gut Microbiota Composition. **Nutrients**. ISSN 2072-6643. 11:10 (2019) 1–23. doi:

- 10.3390/nu11102393.
43. SENN, Viola *et al.* - Microbial Colonization From the Fetus to Early Childhood—A Comprehensive Review. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. ISSN 22352988. 10:October (2020) 1–12. doi: 10.3389/fcimb.2020.573735.
 44. SINGH, Rasnik K. *et al.* - Influence of diet on the gut microbiome and implications for human health. **Journal of Translational Medicine**. ISSN 14795876. 15:1 (2017) 1–17. doi: 10.1186/s12967-017-1175-y.
 45. SPOR, Aymé; KOREN, Omry; LEY, Ruth - Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. **Nature Reviews Microbiology**. ISSN 17401526. 9:4 (2011) 279–290. doi: 10.1038/nrmicro2540.
 46. TKACH, Sergii *et al.* - Current Status and Future Therapeutic Options for Fecal Microbiota Transplantation. **Medicina (Kaunas, Lithuania)**. ISSN 1648-9144 (Electronic). 58:1 (2022) 1–24. doi: 10.3390/medicina58010084.
 47. TOPPING, David L.; CLIFTON, Peter M. - Short-chain fatty acids and human colonic function: Roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiological Reviews**. ISSN 00319333. 81:3 (2001) 1031–1064. doi: 10.1152/physrev.2001.81.3.1031.
 48. TURNBAUGH, Peter J. *et al.* - An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**. ISSN 00280836. 444:7122 (2006) 1027–1031. doi: 10.1038/nature05414.
 49. VALLIANOU, Natalia *et al.* - Do Antibiotics Cause Obesity Through Long-term Alterations in the Gut Microbiome? A Review of Current Evidence. **Current Obesity Reports**. ISSN 21624968. 10:3 (2021) 244–262. doi: 10.1007/s13679-021-00438-w.
 50. VRIEZE, Anne *et al.* - Transfer of Intestinal Microbiota From Lean Donors Increases Insulin Sensitivity in Individuals With Metabolic Syndrome. **Gastroenterology**. ISSN 0016-5085. 143:4 (2012) 913-916.e7. doi: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2012.06.031>.
 51. WALLER, Karen M. J.; LEONG, Rupert W.; PARAMSOTHY, Sudarshan - An update on fecal microbiota transplantation for the treatment of gastrointestinal diseases. **Journal of gastroenterology and hepatology**. Australia. ISSN 1440-1746 (Electronic). 37:2 (2022) 246–255. doi: 10.1111/jgh.15731.
 52. WEERSMA, Rinse K.; ZHERNAKOVA, Alexandra; FU, Jingyuan - Interaction between drugs and the gut microbiome. **Gut**. ISSN 14683288. 69:8 (2020) 1510–1519. doi: 10.1136/gutjnl-2019-320204.

53. WINGLEE, Kathryn *et al.* - Recent urbanization in China is correlated with a Westernized microbiome encoding increased virulence and antibiotic resistance genes. **Microbiome**. ISSN 20492618. 5:1 (2017) 1–13. doi: 10.1186/s40168-017-0338-7.
54. WU, Hao *et al.* - Metformin alters the gut microbiome of individuals with treatment-naive type 2 diabetes, contributing to the therapeutic effects of the drug. **Nature Medicine**. ISSN 1546170X. 23:7 (2017) 850–858. doi: 10.1038/nm.4345.
55. YU, Dahai *et al.* - Implications of Gut Microbiota in Complex Human Diseases. **International journal of molecular sciences**. ISSN 1422-0067 (Electronic). 22:23 (2021) 1–33. doi: 10.3390/ijms222312661.
56. ZAISS, Mario M. *et al.* - The gut–joint axis in rheumatoid arthritis. **Nature Reviews Rheumatology**. ISSN 17594804. 17:4 (2021) 224–237. doi: 10.1038/s41584-021-00585-3.
57. ZHENG, P. *et al.* - Erratum: The gut microbiome from patients with schizophrenia modulates the glutamate-glutamine-GABA cycle and schizophrenia-relevant behaviors in mice (Science Advances DOI: 10.1126/sciadv.aau8317). **Science Advances**. ISSN 23752548. 5:6 (2019) 1–12. doi: 10.1126/SCIADV.AAY2759.
58. ZIJLMANS, Maartje A. C. *et al.* - Maternal prenatal stress is associated with the infant intestinal microbiota. **Psychoneuroendocrinology**. ISSN 18733360. 53:2015) 233–245. doi: 10.1016/j.psyneuen.2015.01.006.