



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Inês Martins Alberto

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Microbioma e afeções pulmonares: existe alguma associação?” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Doutora Marília João Rocha, da Dra. Ana Patrícia Costa e Silva David e da Professora Doutora Gabriela Conceição Duarte Jorge Silva, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Outubro de 2021



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Inês Martins Alberto

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Microbioma e afeções pulmonares: existe alguma associação?” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob orientação da Doutora Marília João Rocha, da Dra. Ana Patrícia Costa e Silva David e da Professora Doutora Gabriela Conceição Duarte Jorge Silva, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Outubro de 2021

Eu, Inês Martins Alberto, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º2016231888, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Microbioma e afeções pulmonares: existe alguma associação?” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 26 de outubro, 2021.

Inês Martins Alberto

(Inês Martins Alberto)

Agradecimentos

*“Eu sou a que no mundo anda perdida,
Eu sou a que na vida não tem norte,
Sou a irmã do Sonho, e desta sorte”*

Florabela Espanca

À minha família, em especial à minha mãe por me ter apoiado em todas as decisões e opções que tomei nestes últimos 5 anos e por me permitir abraçar todas as loucuras e sonhos.

Ao meu pai e ao meu irmão que foram mais um porto seguro nesta jornada que agora termina.

À minha avó Alice que se sempre me ajudou a crescer e a tornar-me a Mulher que sou hoje.

À Maria e à Beatriz por toda a partilha, suporte e ajuda ao longo destes belos anos de amizade e de vida universitária.

À Doutora Marília João Rocha e aos farmacêuticos do CHUC pela oportunidade e disponibilidade demonstrada durante o estágio nos Serviços Farmacêuticos.

À Dra. Ana Patrícia David, ao Senhor Rui e à Kelly por todos os conhecimentos que me transmitiram e pelo espírito de equipa.

À Professora Doutora Gabriela Conceição Duarte Jorge Silva por todo o apoio, paciência e compreensão durante toda esta monografia.

À Bruna por me ter quase obrigado a escolher Coimbra para se tornar a minha casa e lar nestes últimos 5 anos.

À minha grande amiga e madrinha Carolina por me ter apresentado Coimbra e a verdadeira e única Academia. Às minhas afilhadas, Beatriz e Inês, que me tornaram a madrinha mais feliz e orgulhosa de Coimbra.

A todos os Mamoenses por se terem tornado a minha Família coimbrinha. Às minhas amigas e meus amigos por terem marcado estes 5 anos incríveis. A todos os meus amigos algarvios por me terem aturado a falar sobre a magnífica Cidade dos Estudantes. À Patrícia e à Teresa que sempre foram amigas para todas as ocasiões.

À Estudantina Feminina de Coimbra da SF/AAC, à Orquestra Típica da SF/AAC e à enorme Secção de Fado por se terem tornado a minha segunda família e por todo o verdadeiro espírito académico de Coimbra.

A Coimbra e às vivências desta cidade, o meu muito obrigada

De Coimbra ficará sempre a breve eternidade

ÍNDICE

PARTE I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA HOSPITALAR

Abreviaturas.....	8
1. Introdução.....	9
2. Análise SWOT.....	11
2.1.Pontos Fortes.....	11
2.1.1. Possibilidade de conhecer diferentes setores dos Serviços Farmacêuticos..	11
2.1.2. Conhecimento <i>in loco</i> do universo hospitalar.....	12
2.1.3. Aplicação dos conhecimentos adquiridos e das novas aprendizagens.....	13
2.1.4. Abertura de novas opções e oportunidades.....	14
2.2.Pontos Fracos.....	14
2.2.1. Curta duração do período de estágio.....	14
2.2.2. Curta permanência em alguns setores durante o estágio.....	16
2.3.Oportunidades.....	16
2.3.1. Desenvolvimento de competências úteis para o futuro profissional.....	16
2.3.2. Oportunidade de estágio presencial apesar da situação pandémica.....	16
2.3.3. Contacto com novas terapêuticas e medicamentos.....	16
2.4.Ameaças.....	17
2.4.1. Influência da atual situação pandémica na dinâmica do estágio.....	17
2.4.2. Impossibilidade de realizar os rastreios epidemiológicos.....	17
3. Considerações Finais.....	17
4. Referências Bibliográficas.....	18

PARTE II – RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Abreviaturas.....	20
1. Introdução.....	21
2. Análise SWOT.....	22
2.1.Pontos Fortes.....	22
2.1.1. Equipa profissional e experiente.....	22
2.1.2. Plano de Estágio.....	22
2.1.3. Atendimento no novo módulo SIFARMA®.....	23
2.1.4. Espaço da Farmácia.....	23
2.2.Pontos Fracos.....	23
2.2.1. Preparação de medicamentos manipulados.....	23
2.2.2. Afluência dos utentes.....	24
2.2.3. Serviços Farmacêuticos à Comunidade.....	24
2.3.Oportunidades.....	24
2.3.1. Formações adicionais.....	24
2.4.Ameaças.....	24
2.4.1 Outras farmácias, parafarmácias com MNSRM e sítios na <i>internet</i>	24
2.4.2. COVID-19.....	25
3. A importância do aconselhamento farmacêutico.....	25
3.1. Caso Clínico 1.....	25
3.2.Caso Clínico 2.....	26
3.3.Caso Clínico 3.....	26
4. Considerações Finais.....	26
5. Referências Bibliográficas.....	27

PARTE III – MONOGRAFIA: “Microbioma e afeções pulmonares: existe alguma associação?”

Abreviaturas.....	29
Resumo.....	30
<i>Abstract</i>	31
1. Introdução.....	32
2. O Microbioma Pulmonar.....	33
3. O Microbioma Pulmonar no recém-nascido.....	37
4. Eixo Pulmão – Intestino.....	41
5. O Microbioma Pulmonar nas afeções pulmonares.....	51
5.1. Asma	51
5.2. Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica.....	54
5.3. Fibrose quística.....	58
5.4. Cancro do Pulmão.....	61
6. Influência do estilo de vida no Microbioma Pulmonar	63
6.1. Influência da Dieta.....	63
6.2. Consequências do Tabagismo.....	65
7. Conclusão.....	66
8. Referências Bibliográficas.....	67

PARTE I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA HOSPITALAR



Sob a orientação da Doutora Marília João Rocha

Abreviaturas

AUE – Autorização de Utilização Excecional

CHUC – Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra

DAM – Direção de Avaliação de Medicamentos

DATS – Direção de Avaliação de Tecnologias da Saúde

EPE – Entidade Pública Empresarial

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

HUC – Hospitais da Universidade de Coimbra

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

PAP – Programa de Acesso Precoce

PEMProx – Programa de Entrega de Medicamentos em Proximidade

PET – Tomografia por Emissão de Positrões

SF – Serviços Farmacêuticos

SIATS – Sistema de Informação para a Avaliação das Tecnologias de Saúde

SWOT – *Strenghts, Weakness, Opportunities, Threats*

UMIV – Unidade de Misturas Intravenosas

UPC – Unidade de Produção de Citotóxicos

I. Introdução

No contexto da Unidade de Estágio Curricular do 2º semestre, do 5º ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), realizei um estágio em Farmácia Hospitalar nos Serviços Farmacêuticos (SF) do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, E.P.E. (CHUC) entre 11 de janeiro a 12 de março de 2021.

O Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra é um centro hospitalar central, geral e universitário com autonomia financeira, patrimonial e administrativa, sendo assim uma entidade pública empresarial (E.P.E.). Foi criado a 2 de março de 2011 pelo Decreto-Lei n.º 30/2011.(1) Este centro hospitalar é formado pelos Hospitais da Universidade de Coimbra (HUC), o Hospital Geral, a Maternidade Bissaya Barreto, a Maternidade Daniel de Matos, o Hospital Pediátrico e o Hospital Sobral Sid.(2)

Este Centro Hospitalar pertence ao Grupo III da hierarquia hospitalar e possui todas as especialidades médicas e cirúrgicas, sendo que as áreas de maior diferenciação e especialização exigem uma autorização da tutela.(3) O CHUC é considerado um centro hospitalar com uma grande dimensão, contando com cerca de 1800 camas nas mais diversas especialidades, segundo um Relatório e Contas de 2019.(4)

Os SF do CHUC desempenham uma função complementar à função principal do Hospital e exercem um conjunto de atividades associadas à farmácia hospitalar. A farmácia hospitalar compreende todas as atividades farmacêuticas inerentes a tal organismo hospitalar, de modo a colaborar nas funções de assistência, na promoção de investigação científica e de ensino.(5) Os SF têm também autonomia técnica e são dirigidos por um diretor de serviço que tem que ser da carreira farmacêutica.(5) No caso dos SF do CHUC, o Diretor de serviço é o Dr. José Feio que também exerce a função de docente da cadeira de Farmácia Hospitalar no 5º ano do MICF na FFUC.

Este serviço é composto por vários setores que desenvolvem atividades específicas, funcionando de modo interdependente entre eles. É necessário que todos os setores operem como um só para que os SF funcionem. Estes setores são: a Distribuição, a Farmacotecnia, a Gestão e Aprovisionamento, a Informação de Medicamentos e Dispositivos Médicos, a Farmácia Clínica, os Ensaios Clínicos, a Auditoria Interna e a Formação Pré e Pós-Graduada.

O setor da Distribuição é o responsável por fazer chegar o medicamento até ao doente, esteja ele internado ou em regime de ambulatório. Este setor tem que garantir a validação da prescrição, promover a redução dos erros associados à medicação e monitorizar a terapêutica. Garante também a administração correta do medicamento, racionaliza a distribuição dos medicamentos e os custos da terapêutica, reduz o tempo de enfermagem que se dedica às tarefas administrativas e à manipulação dos medicamentos.(6) A Distribuição é também responsável pelo controlo de estupefacientes existentes nos serviços e realiza a entrega de medicamentos hospitalares aos doentes em ambulatório.

A Farmacotecnia é o setor onde se efetua a preparação de medicamentos que não se encontram disponíveis no mercado. Atualmente, as preparações farmacêuticas que são preparadas destinam-se a doentes individuais e específicos (como doentes pediátricos), reembalagem para doses unitárias sólidas, preparações asséticas e as preparações estéreis ou citotóxicas individualizadas.(6)

Nos SF do CHUC, este setor encontra-se subdividido em várias unidades de acordo com as preparações farmacêuticas que realizam. Existe uma Unidade de Misturas Intravenosas (UMIV), o Laboratório de preparação de Não-Estéreis, a Unidade de Preparação de Citotóxicos (UPC) localizada no Edifício São Jerónimo e a Radiofarmácia que está incluída no serviço da Medicina Nuclear.

Outro setor que compõe os SF é o setor da Gestão e Aprovisionamento, que tem como função assegurar a disponibilidade de todos os medicamentos, dispositivos médicos ativos medicalizados e outros produtos farmacêuticos no momento necessário, nas condições de segurança exigidas e na quantidade essencial com o melhor custo possível para todos os doentes. A gestão dos medicamentos compreende várias fases, iniciando-se pelo processo de seleção, seguida da aquisição e do armazenamento, terminando com a distribuição e administração do medicamento certo ao doente certo. A importância deste setor é cada vez maior pois todos os dias surgem novos medicamentos e terapêuticas, cada vez mais dispendiosas, e é fulcral fazer uma gestão e um aprovisionamento correto de modo a garantir a saúde financeira deste serviço e do Hospital.

Existe um setor responsável por todos os esclarecimentos e informações relativas aos medicamentos e dispositivos médicos. O setor da Informação de Medicamentos e Dispositivos Médicos dos CHUC localiza-se nos HUC e presta informações a todos os serviços do centro hospitalar.

A Farmácia Clínica é uma área que se encontra disseminada um pouco por todos os setores, sendo muito útil no setor da Distribuição. Os conhecimentos desta área permitem que se responda às necessidades do doente, selecionando o medicamento certo nas condições mais adequadas.

O setor dos Ensaio Clínicos realiza uma monitorização de todo o circuito do medicamento experimental e dos dispositivos médicos. A participação em ensaios clínicos e a gestão dos medicamentos relacionados com estes ensaios recai sobre este setor específico dos SF.(6)

O setor responsável por realizar Auditorias Internas efetua uma monitorização e medição dos processos realizados nos serviços farmacêuticos, verificando se os processos estão em conformidade e recomenda ações que devem implementadas e melhoradas.(7)

Uma das competências dos serviços farmacêuticos hospitalares é promover e colaborar na preparação e aperfeiçoamento do pessoal que colabora nestes setores, promovendo ações educativas na área farmacêutica que também podem se estender a outros serviços. É o setor da Formação Pré e Pós-Graduada que assume esta competência.

2. Análise SWOT

A análise **SWOT** (*Strenghts, Weakness, Opportunities, Threats*) é um processo de análise que visa perceber os Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças de determinado projeto, estágio ou empresa. Neste caso concreto, irei realizar uma análise SWOT ao estágio realizado nos SF do CHUC, que permitirá chegar a conclusões a cerca da minha aprendizagem.

2.1 Pontos Fortes

2.1.1 Possibilidade de conhecer diferentes setores dos Serviços Farmacêuticos

No início do estágio, tivemos uma curta apresentação para conhecer um pouco de como funcionava os SF do CHUC e os diferentes setores que o componham. Ao longo do período do estágio, passei pelos diferentes setores o que me permitiu conhecer um pouco de cada setor e perceber a importância do funcionamento de cada um dentro dos SF.

O primeiro setor por onde passei foi o da Farmacotecnia, que se encontra dividido nos SF tendo em conta o tipo de manipulados que produzem. Este setor apresenta uma UMIV, um Laboratório de Não Estéreis e a Radiofarmácia, no edifício principal dos HUC, uma UPC no edifício São Jerónimo e ainda um polo dos SF no Hospital Pediátrico.

Iniciei o meu estágio no Hospital Pediátrico, onde fiquei a conhecer um pouco das preparações quimioterapêuticas e de nutrição parentérica realizadas para a população pediátrica. Seguiu-se depois a Radiofarmácia, área incluída no serviço de Medicina Nuclear, responsável pela preparação dos radiofármacos que podem ser utilizados tanto para diagnóstico como para terapêutica.

Nas duas semanas que se seguiram, foi-me apresentado a UMIV e o Laboratório de Não Estéreis. A UMIV é a unidade responsável pela preparação de manipulados que serão administrados via endovenosa e que requerem condições de esterilidade. Adicionalmente, podem necessitar de uma proteção extra da preparação e do manipulador devido à sua citotoxicidade e mutagenicidade. O Laboratório de Não Estéreis é o laboratório responsável por manipular as preparações de uso interno e externo que podem não necessitar de ser totalmente estéreis. Neste laboratório preparam-se manipulados nas formas farmacêuticas e dosagens que não estão disponíveis no mercado.

Finalizei este setor com uma breve passagem pela UPC no edifício São Jerónimo, responsável pela preparação de todos os protocolos de quimioterapia necessários para o Hospital de Dia de Oncologia.

O setor que se seguiu foi a Gestão e Aprovisionamento. Este setor é responsável pelo aprovisionamento e gestão de todos os produtos farmacêuticos. Este setor gere toda a parte inicial do circuito do medicamento, começando pela seleção das moléculas e a sua aquisição. A receção dos produtos é realizada num único armazém central, e é daí que parte para os vários setores dos SF. O armazenamento dos produtos farmacêuticos, dispositivos médicos e medicamentos deve ser feita consoante as necessidades de conservação de cada produto de modo a manter a qualidade e segurança.

A Distribuição foi o último setor do meu estágio. Este setor encontra-se também dividido em múltiplos espaços pois a distribuição de medicamentos percorre todos os serviços do hospital e também apoia na cedência em ambulatório dos medicamentos hospitalares. O farmacêutico alocado ao setor da distribuição é o responsável pela validação das prescrições dos vários serviços que compõem o CHUC. Cada farmacêutico fica responsável por validar as prescrições dos serviços que lhe competem.

2.1.2 Conhecimento *in loco* do universo hospitalar

A Farmácia Hospitalar é uma área das Ciências Farmacêuticas pouco abordada durante o percurso académico de um estudante. Apesar de termos uma cadeira que se dedica a esta área, nada substitui o conhecimento e aprendizagem no “terreno”. Durante este estágio, consegui perceber e aprender o real valor que os SF têm dentro de um Hospital e qual o papel do farmacêutico em todo o circuito do medicamento.

Os SF têm inúmeras funções como a seleção e aquisição de produtos farmacêuticos e o seu armazenamento, a distribuição, a produção, os ensaios clínicos, a informação de medicamentos, entre outros. De entre todas as funções que vi serem realizadas destaco a cedência de medicação hospitalar em regime de ambulatório, para as patologias que se encontram legisladas.

A Farmácia de Ambulatório tem um contacto privilegiado e direto com o doente, dando respostas às suas necessidades. Antes de passar por este setor, não tinha noção do papel e da importância da Farmácia de Ambulatório na vida do doente, que muitas vezes apresenta patologias crónicas e debilitantes.

A medicação cedida ao doente, em contexto hospitalar, é planeada de modo que cada doente tenha apenas dois meses de terapêutica. Esta política obriga a levantar o resto da terapêutica *a posteriori* para manter o tratamento. Com a situação pandémica que vivemos e de modo a facilitar a cedência dos medicamentos hospitalares, o programa PEMProx (programa de entrega de medicamentos em proximidade) cresceu e possibilitou a entrega dos medicamentos hospitalares à farmácia escolhida pelo doente, aumentando assim a comodidade no acesso a estas terapêuticas.

Outro dos aspetos que aprendi foi que alguns medicamentos requerem uma Autorização de Utilização Excepcional (AUE). Esta AUE é dada a todos os medicamentos que ainda estão sujeitos a avaliação por parte do Serviço Nacional de Saúde, não havendo qualquer alternativa terapêutica para o doente que está em risco de vida ou sob o risco de sofrer complicações graves.

Estes pedidos de AUE estão sob a responsabilidade do farmacêutico pertencente ao setor de Gestão e Aprovisionamento. Cada pedido é feito por doente no portal SIATS (Sistema de Informação para a Avaliação das Tecnologias de Saúde), mediante uma avaliação por parte da Comissão de Farmácia e Terapêutica e de uma justificação clínica. Os medicamentos que estão sob esta Autorização Excepcional podem fazer parte ou não do Programa de Acesso Precoce (PAP), e consoante certas especificidades, o pedido é submetido

à Direção de Avaliação de Tecnologias da Saúde (DATS) ou à Direção de Avaliação de Medicamentos (DAM).

2.1.3 Aplicação dos conhecimentos adquiridos e das novas aprendizagens

Durante este estágio, consegui aplicar conhecimentos que adquiri ao longo do meu percurso académico. Toda a aprendizagem que adquiri em Farmacologia, Farmácia Clínica, Farmácia Hospitalar, Assuntos Regulamentares e outros, foram úteis durante este período.

Um dos setores em que mais apliquei os meus conhecimentos foi o setor da Farmacotecnia. Este setor dos SF é composto por diversas áreas, onde destaco a Radiofarmácia, uma área totalmente nova e desafiante para mim.

A Radiofarmácia é a área que prepara os radiofármacos que podem ser utilizados tanto para diagnóstico como para terapêutica. Estes radiofármacos são maioritariamente administrados por via endovenosa. A manipulação e preparação destes fármacos requer o cumprimento de inúmeros protocolos e regras, equipamentos e uma sala preparada para estes compostos com pessoal altamente especializado.

Os radiofármacos podem ser compostos por radionuclídeos com características radioativas e compostos químicos com um comportamento radiofarmacêutico. As duas unidades de medida mais utilizadas na Radiofarmácia dos HUC são o Becquerels, unidade do sistema internacional, e o Curie.

Aprendi que os radionuclídeos utilizados nesta área são produzidos a partir de geradores de $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ que decaem, possibilitando a obtenção do isótopo $^{99\text{m}}\text{Tc}$ para conjugar com o composto químico frio.

A radiação ionizante produzida pelos radionuclídeos pode ter uma ação terapêutica, radiação alfa e beta, ou uma ação de diagnóstico, positrão e radiação gama. A radiação alfa apresenta um uso clínico limitado. Já o positrão está a começar a ser utilizado para a marcação de fármacos de modo a produzir uma imagem na tomografia por emissão de positrões (PET). Esta é a nova tecnologia de ouro da Medicina Nuclear, mas ainda existem poucos fármacos que possam ser marcados com positrões. A radiação gama apresenta um enorme poder penetrante com uma reduzida produção de danos ao nível celular. Esta radiação é detetada nas câmaras de radiação gama e o exame tem o nome de cintigrafia.

Como a manipulação dos radiofármacos tem que ser realizada por pessoal autorizado e especializado, todo o material radioativo tem um percurso distinto dentro dos SF pois chega

diretamente ao serviço de Medicina Nuclear sem passar pelo percurso de aprovisionamento do medicamento.

Durante o processo de manipulação e preparação do radiofármaco, colaborei no preenchimento dos registos efetuados diariamente para cada gerador, preenchi rótulos e apoiei a Dra. Adelaide Lima na manipulação.

2.1.4 Resiliência e perseverança das várias equipas nesta situação pandémica

No meio da situação pandémica que vivemos, consegui estagiar durante uma altura que desafiou todas as equipas que trabalharam diretamente e indiretamente com o COVID-19. Apesar de ser recomendado reduzir os contactos e aumentar o distanciamento, fui acolhida muito bem nos vários setores e consegui ver todo o esforço dos profissionais de saúde, principalmente dos farmacêuticos, para manterem “tudo sobre rodas” e tentarem ao mesmo tempo ensinar-nos o que conseguiam dentro do tempo disponível.

Existiram situações em que o setor onde me encontrava não tinha capacidade suficiente para ter todos os trabalhadores essenciais mais os estagiários no mesmo espaço. Mas graças à grande capacidade de resiliência, conseguia-se encontrar opções adequadas à aprendizagem de um estagiário.

Outra das situações que me deparei durante o período de estágio foi a impossibilidade de me deslocar à UPC na semana que me estava designada, devido à situação pandémica que vivíamos. Apesar deste percalço inicial, com a ajuda da Dra. Paula Pina, consegui ir uma manhã à UPC. Esta unidade localiza-se no Hospital de Dia de Oncologia e prepara todos os protocolos de quimioterapia necessários. Visualizei todo o circuito de preparação da quimioterapia que se inicia pela validação farmacêutica, seguida pela individualização do material necessário a entrar na câmara, manipulação e entrega do manipulado à respetiva sala de administração.

2.2 Pontos Fracos

2.2.1 Curta duração do período de estágio

Este estágio realizado nos SF dos CHUC teve apenas a duração de dois meses. Dois meses que enriqueceram imenso toda a minha experiência de estágio e, que contribuirão para o meu futuro profissional. Apesar de enriquecedor, este período soube a pouco, pois não me permitiu estar o mesmo tempo em todos os setores. A aprendizagem neste estágio seria

melhorada se o tempo de estágio fosse estendido para três meses como acontece noutros tipos de estágio.

2.2.2 Curta permanência em alguns setores durante o estágio

A dinâmica de rotação pelos vários setores dos SF permitiu-me conhecer cada um dos setores e perceber o papel importante que todos têm no funcionamento global deste serviço. O único lado negativo foi unicamente a permanência breve num dos locais de estágio devido ao curto tempo de estágio. Gostaria de ter passado mais do que três dias no Hospital Pediátrico, mas foi o que o tempo de estágio permitiu.

2.3 Oportunidades

2.3.1 Desenvolvimento de competências úteis para o futuro profissional

A profissão de farmacêutico nunca é desempenhada sozinha e necessita de uma equipa bem organizada e funcional. Para além disso, podemos ainda estar envolvidos com outras equipas multidisciplinares e é necessário ter competências sociais que nos permitam lidar com pessoas e sob pressão. A inclusão do estagiário nestas equipas, permite-nos desenvolver estas competências e aprender a lidar com as múltiplas situações que são apresentadas ao farmacêutico no seu dia-a-dia.

2.3.2 Oportunidade de estágio presencial apesar da situação pandémica

A situação pandémica que vivemos hoje, levou-nos a alterar os nossos hábitos do dia-a-dia e obrigou-nos a adotar novas práticas no contacto com os outros e nos ambientes de trabalho. Esta pandemia ficará para sempre na história de todos nós e ter conseguido estagiar e presenciar todas as dificuldades, êxitos e novos métodos de trabalho é sem dúvida uma oportunidade para mim enquanto estudante de saúde. Foi uma oportunidade que enriqueceu imenso o meu período de estágio e que marcará o meu futuro profissional.

2.3.3 Contacto com novas terapêuticas e medicamentos

O CHUC é um centro hospitalar com uma grande dimensão, onde se associa a inovação na terapêutica e nos seus procedimentos. Esta constante inovação permitiu-me estar ocorrente de novas terapias aplicadas aos doentes, novas linhas terapêuticas e perceber corretamente como funciona a autorização de utilização especial (AUE).

Uma das áreas onde se constata uma enorme inovação e desenvolvimento é a quimioterapia. Nesta área surgem frequentemente novos protocolos de tratamento que exigissem muita pesquisa e estudo por parte dos profissionais. Foram-me apresentados alguns

protocolos que desconhecia, bem como opções terapêuticas recentemente introduzidas no mercado.

Estive também em contacto com as linhas terapêuticas seguidas nos doentes com SARS-CoV-2. Um dos fármacos de eleição foi o Remdesivir, onde aprendi imenso sobre o modo de preparação do medicamento a administrar e a posologia mais adequada para cada doente.

2.4 Ameaças

2.4.1 Influência da atual situação pandémica na dinâmica do estágio

A pandemia criada pela COVID-19 veio modificar a dinâmica normal de um estágio curricular, não nos permitindo estagiar do mesmo que modo que estávamos habituados. Tivemos que nos adaptar à realidade de cada setor, o que por vezes implicou uma menor disponibilidade para o ensino ao estagiário. As relações interpessoais acabaram por sair prejudicadas devido ao distanciamento imposto e ao uso de máscara. Apesar disto, conseguiu-se dar a volta a esta ameaça criada pela situação pandémica.

2.4.2 Impossibilidade de realizar os rastreios epidemiológicos

Surgiu a oportunidade de todos os estudantes da FFUC colaborarem com a Administração Regional de Saúde do Centro nos inquéritos epidemiológicos. Participei na formação necessária para realizar os mesmos, mas nunca fui contactada para os realizar.

3. Considerações Finais

O farmacêutico hospitalar é um dos profissionais de saúde desconhecido por muitos dos utentes do Hospital com um papel fundamental no circuito do medicamento e produtos de saúde. A sua ação junto de todas as etapas desde a receção, armazenamento, distribuição, produção, entre outras, permite um correto uso e gestão destes produtos dentro do Serviço Nacional de Saúde.

A realização deste estágio permitiu-me conhecer mais uma vertente da profissão farmacêutica, devendo por isso um especial agradecimento a toda a equipa dos SF do CHUC, em especial à Doutora Marília Rocha, por terem permitido esta aprendizagem de modo a completar o meu percurso académico.

4. Bibliografia

- (1) Decreto-Lei n.º 30/2011 de 2 de março - Criação e Estabelecimentos dos Centros Hospitalares E.P.E. **Diário da República** n.º 43/2011, 1ª Série de 2011-03-02, p.1274–1277.
- (2) CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA - **Regulamento Interno CHUC**. Coimbra: CHUC,2020. [Acedido a 10 de junho de 2021]. Disponível na Internet: https://www.chuc.min-saude.pt/media/Regulamento_Interno_/Regulamento_Interno_CHUC_-_Homologado_SES_2020.pdf
- (3) Portaria n.º 82/2014 de 10 de abril - Categorização dos serviços e estabelecimentos do Serviço Nacional de Saúde. **Diário da República** n.º71/2014, 1ª Série de 2014-04-10, p.2364–2366.
- (4) CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA - **Relatório e Contas 2019 CHUC E.P.E**. Coimbra: CHUC,2019. [Acedido a 12 de junho de 2021]. Disponível na Internet:https://www.chuc.min-saude.pt/media/relatorios_contas/2019/Relatorio_e_Contas_CHUC_2019_-_Assinado_compressed.pdf
- (5) Decreto-Lei n.º 44/204 de 2 de fevereiro - Regulação geral da Farmácia hospitalar. **Diário da República** n.º 40/1962, 1ª Série de 1962-02-22, p.164-166.
- (6) BROU, M. ; FEIO, J. ; MESQUITA, E. ; RIBEIRO, R. ; BRITO, M. ; CRAVO, C. ; PINHEIRO, E. - **Manual da Farmácia Hospitalar**. Lisboa: Ministério da Saúde, 2005. [Acedido a 20 de maio de 2021]. Disponível na Internet http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/PUBLICACOES/TEMATICOS/MANUAL_FARMACIA_HOSPITALAR/manual.pdf
- (7) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Manual de Boas Práticas de Farmácia Hospitalar**. Lisboa: Ordem dos Farmacêuticos, 2018 [Acedido a 26 de maio de 2021]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/publicacoes/mbpfbh_capitulo_i_vfinal_17815111995a8eee5ad0c17.pdf

PARTE II

RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA



Sob a orientação da Dra. Ana Patrícia Costa e Silva David

Abreviaturas

FC – Farmácia Comunitária

FFUC – Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

MICF – Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SWOT – *Strenghts, Weakness, Opportunities, Threats*

I. Introdução

A Farmácia é a faculdade de excelência que trabalha com o medicamento como um todo. O exercício da profissão farmacêutica compreende o envolvimento em diversas áreas, de entre as quais se destaca a Farmácia Comunitária (FC) ou Farmácia de Oficina.(1)

A FC é uma das principais portas de entrada em qualquer sistema de saúde, pois tem uma localização privilegiada junto da população, prestando diversos cuidados de saúde com uma elevada diferenciação técnico-científica, disponibilidade e qualidade.(2) Esta é a área que mais representa a profissão farmacêutica, albergando a maior parte destes profissionais.(1)

O farmacêutico é o profissional especialista em todas as matérias que envolvem os medicamentos(1,2) e os produtos de saúde,(2) desempenhando funções como agente de saúde pública, pois preocupa-se tanto com o tratamento da doença como com a promoção da saúde e bem-estar da comunidade.(1,2) Pertence à grande família dos profissionais de saúde, com uma formação especializada na manipulação, processo de uso e na avaliação do medicamento e dos seus efeitos.(3) Assegura também a manutenção do benefício terapêutico com a utilização destes produtos no seio da população.(3) O ato farmacêutico é exclusivamente desempenhado e da total responsabilidade do farmacêutico.(1)

A FC foca-se na preparação, obtenção, armazenamento, conservação, distribuição e eliminação de todos os medicamentos e produtos de saúde com que trabalha. Para além disso, realiza ações junto do utente como a dispensa e administração de medicamentos, acompanhamento fármaco-terapêutico, aconselhamento e indicação farmacêutica e farmacovigilância do medicamento.(2) O medicamento é parte crucial e crítica de todos os serviços de saúde e é utilizado em programas de prevenção, tratamento e diagnóstico no ser humano ou no animal.(4)

Uma das grandes alterações que se verificou no meio da FC foi a possibilidade de venda e cedência de medicamentos não sujeitos a receita médica fora das farmácias.(1) A FC deixou assim de ser o local exclusivo que trabalha com estes produtos. Estes estabelecimentos podem estar sob a responsabilidade técnica de um farmacêutico ou técnico de farmácia mas não é exigido qualquer formação específica para os restantes colaboradores.(1)

No contexto da Unidade de Estágio Curricular do 2º semestre, do 5º ano do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), realizei um estágio em FC na Farmácia Nazareth sob a orientação da Dra. Ana Patrícia Costa e Silva David entre 19 de abril e 31 de julho de 2021, cumprindo as 648h

de formação. Esta farmácia encontra-se sob a direção técnica do Dr. Pedro Amaro e está localizada na União de Freguesias Sé Nova, Santa Cruz, Almedina e São Bartolomeu.

A Farmácia Nazareth tem um público-alvo tendencialmente mais envelhecido com alguma procura por parte de jovens e adolescentes no período escolar e universitário, devido à sua proximidade com a Escola Secundária José Falcão e a Universidade de Coimbra. Os utentes que a farmácia serve são utentes com algum grau de literacia em saúde, muitos deles médicos reformados, o que altera o aconselhamento farmacêutico.

Os profissionais que compõem a equipa desta farmácia são o Dr. Pedro Amaro, como diretor técnico, a Dra. Ana Patrícia David, como farmacêutica substituta, o senhor Rui Fonseca e a Kelly Correia, ambos técnicos de farmácia. O horário de funcionamento estabelecido é das 9h às 19h30, em dias da semana, e das 9h à 13h no sábado. A Farmácia Nazareth encontra-se fechada aos domingos e feriados.

2. Análise SWOT

A análise **SWOT** (*Strengths, Weakness, Opportunities, Threats*) é um processo de análise que visa perceber os Pontos Fortes, Pontos Fracos, Oportunidades e Ameaças de determinado projeto, estágio ou empresa. Neste caso concreto, irei realizar uma análise SWOT ao estágio realizado na Farmácia Nazareth que permitirá chegar a conclusões a cerca da minha aprendizagem.

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Equipa profissional e experiente

A equipa da Farmácia Nazareth é composta por profissionais com uma ampla experiência que se preocupam com o utente, promovendo a saúde e bem-estar da comunidade que a acolhe. A comunicação entre todos os profissionais é crucial para um bom funcionamento da farmácia e facilita o trabalho de todos, promovendo um ambiente saudável no local de trabalho. A solidez desta equipa e o bom ambiente que verifiquei facilitaram a minha integração, enquanto recém-membro, e potenciou a minha aprendizagem e evolução enquanto futura profissional. O entendimento entre a equipa transparece para o público que visita a farmácia e auxilia no atendimento.

2.1.2. Plano de Estágio

O meu plano de estágio foi estruturado coerentemente, promovendo a passagem do estagiário por todo o circuito do medicamento dentro da FC. Comecei por desenvolver

atividades na retaguarda, mais especificamente na receção e armazenamento das encomendas. Colaborei na gestão da conservação dos medicamentos e produtos farmacêuticos com o registo e controlo de temperaturas e humidade relativa. Quando existia oportunidade, visualizava atendimentos e recebia informações acerca dos medicamentos e produtos disponíveis na farmácia. Ao longo do estágio, fui conhecendo o novo módulo do SIFARMA®, trabalhando concomitantemente com o SIFARMA 2000®, e verifiquei receitas manuais de modo a poderem seguir corretamente para a faturação. Após o reforço dos meus conhecimentos, iniciei o atendimento ao público, fase esta onde aprendi a lidar com as questões dos utentes e melhorei o meu aconselhamento farmacêutico.

2.1.3. Atendimento no novo módulo SIFARMA®

Neste estágio foi-me apresentado dois módulos utilizados no dia-a-dia da farmácia: o SIFARMA 2000® e o novo SIFARMA®. Esta nova versão do SIFARMA® veio substituir o SIFARMA 2000®, sendo que apenas estão disponíveis algumas funcionalidades, como o atendimento. Trabalhei com os dois módulos ao mesmo tempo, utilizando o SIFARMA 2000® para rececionar encomendas, gestão de produtos e de encomendas e o novo módulo para o atendimento. Isto exigiu que ganhasse competências em ambos os módulos e que me sentisse capaz e segura de realizar todas as atividades possíveis em ambos os módulos. A minha aprendizagem foi também fortalecida pela visualização de *webinars* sobre o funcionamento destes dois módulos.

2.1.4. Espaço da Farmácia

A Farmácia Nazareth mudou de localização em junho de 2017, passando para um novo espaço mais amplo e que permite a realização de um diverso conjunto de novos serviços à população que serve. É agora uma Farmácia mais moderna, que honra os seus 206 anos de história e conhecimento, melhorando sempre o contacto próximo do público com os produtos. A melhoria do espaço facilita o desenvolvimento do trabalho de todos os profissionais que compõem esta equipa, bem como o dos estagiários. Estagiar num espaço mais amplo e apetecível para o utente permite um melhor atendimento e segurança do estagiário.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Preparação de medicamentos manipulados

Apesar de possuir um laboratório com os materiais exigidos para a produção de medicamentos manipulados, a Farmácia Nazareth optou, neste momento, por não realizar este tipo de protocolos de preparação. A procura por medicamentos manipulados pela população

é reduzida, conduzindo a enormes desperdícios de matérias-primas. Por isso, o meu contacto com este tipo de produtos durante o estágio foi nulo e não executei nem visualizei nenhum protocolo de preparação de manipulados.

2.2.2. Afluência dos utentes

A pandemia da COVID-19 alterou muito dos nossos hábitos enquanto consumidores e isso refletiu-se na farmácia. Na Farmácia Nazareth ocorreu uma diminuição da afluência de utentes e do tempo de permanência de cada utente, o que diminui o período de contacto com os produtos expostos e a compra por impulso. Para além disso, a utilização de equipamentos de proteção individual e acrílicos no atendimento criou uma barreira física entre o profissional e o utente, tornando-se mais um desafio a nível profissional para realizar um correto aconselhamento e explicação de questões.

2.2.3. Serviços Farmacêuticos à Comunidade

As farmácias apresentam um rol de serviços farmacêuticos à população de modo a promover a saúde e prevenir a doença. Entre estes serviços destacam-se a realização de rastreios e medição de parâmetros como a glicémia, colesterol e a pressão arterial. Devido à pandemia e de modo a reduzir o contacto entre o profissional e o utente, a farmácia onde estagiei optou por suspender a realização destes serviços à comunidade, dificultando assim a minha aprendizagem na aplicação e desenvolvimento destes serviços.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Formações adicionais

Surgiu a possibilidade de realizar formações exteriores à farmácia, nomeadamente formações *online* de dermocosmética que acrescentaram e sedimentaram o meu conhecimento sobre estes produtos. Permitiram-me perceber também como realizar um melhor aconselhamento personalizado de modo a responder às necessidades do utente. Acrescentando a estas formações *on-line*, tive também formações presenciais na farmácia sobre medicamentos não sujeitos a receita médica e suplementos.

2.4. Ameaças

2.4.1. Outras farmácias, parafarmácias com MNSRM e sítios na internet

A FC apresenta cada vez mais dificuldade para combater as promoções e descontos realizados em grandes lojas de parafarmácias e mesmo nos sítios da *internet*. Esta estratégia capta todos os consumidores que procuram um preço mais acessível nos produtos que

pretendem adquirir, sem providenciar um aconselhamento farmacêutico que auxiliaria os utentes. Graças à recente mudança de localização, a Farmácia Nazareth é ainda ameaçada por outras farmácias que se encontram na sua área, visto que as mesmas já têm um público-alvo bem estabelecido.

2.4.2. COVID-19

A COVID-19 provou ser uma ameaça ao nosso estilo de vida e à nossa saúde. Esta pandemia veio criar um distanciamento social e dificultar o contacto com o utente. Durante este ano de pandemia, ocorreram diversos confinamentos de modo a reduzir a transmissão e controlar os internamentos a nível hospitalar. Muitas das atividades com atendimento ao público encerram, mas a FC continuou aberta. Os profissionais foram obrigados a adaptar-se a este novo modo de trabalho que dificulta a comunicação e aconselhamento ao utente, cabendo ao profissional adaptar-se a esta nova realidade, e que põe em risco a saúde individual dos membros da equipa da farmácia.

3. A importância do aconselhamento farmacêutico

O farmacêutico tem uma função essencial na melhoria do acesso aos cuidados de saúde e na diminuição da discrepância entre o benefício potencial do uso do medicamento e do seu valor real.⁽³⁾ Este profissional é capaz de providenciar aconselhamento farmacêutico sobre os medicamentos e produtos de saúde a quem lhe procura. O aconselhamento farmacêutico diferencia as farmácias dos restantes estabelecimentos e é ajustado a cada utente, incidindo maioritariamente sobre doenças *minor*. Muitas vezes, este aconselhamento é o primeiro contacto do doente ou mesmo o único com o sistema de saúde.

3.1. Caso Clínico I – Onicomicoses

Uma utente de 38 anos dirige-se à farmácia à procura de uma solução para o seu problema de fungos nas unhas dos pés. Refere que é um problema que tem há algum tempo e que já tentou algumas soluções, mas que não teve o resultado que queria. Reitera ainda que fez uma terapia com tamoxifeno. Antes de fazer questões à utente referi que a toma de tamoxifeno pode diminuir as nossas defesas imunitárias e ser uma possível razão para lhe aparecer fungos nas unhas tão frequentemente. Perguntei-lhe se a presença de fungos estava cingida a uma unha ou se já afetava outras unhas, se tinha a unha intacta e que tratamentos já tinha experimentado para o tratamento da onicomicose. Com as respostas a todas as minhas questões, prestei-lhe alguns aconselhamentos não farmacológicos de modo a evitar o surgimento de novos fungos, como secar bem a unha do pé afetada com uma toalha única e

arejar as unhas dos pés na medida do possível. Recomendei-lhe a caneta para fungos nas unhas da Excilor[®] que é de fácil aplicação diária sem necessidade de limar. Acrescentei ainda que o tratamento é longo, com resultados passado duas semanas, e que poderá ser benéfico fortalecer o sistema imunitário de modo a evitar reaparecimentos. Se a utente notar progressão no fungo deve consultar um médico.

3.2. Caso Clínico 2 – Hemorroidas

Um utente com cerca de 65 anos procura a farmácia de modo a obter um produto que ajude a tratar as hemorroidas. Refere ainda que é frequente o aparecimento deste problema. Após a realização de algumas questões de entre elas: se costuma ter muitas dores ao defecar e se ocorre aparecimento de sangue nas fezes, apresento algumas medidas não farmacológicas ao doente. Aconselho a alterar a sua alimentação, introduzindo mais fibras e ingerindo mais água, e tentar movimentar-se mais, reduzindo o tempo que está sentado. Cedolhe ainda uma pomada Faktu[®] para aplicação na zona afetada de modo a reduzir o desconforto descrito pelo utente, ressaltando que caso não haja melhorias deve ir ao médico.

3.3. Caso Clínico 3

Uma utente com 40 anos dirige-se à farmácia referindo que tem o nariz congestionado, estando a tomar Sinutab[®] e Vibrocil[®] *spray* concomitantemente sem quaisquer melhoras. Tentei perceber se apresentava dores de cabeça, febre e dores no corpo. A utente apenas referiu que sentia a cabeça mais pesada na zona ocular. Aconselhei a reforçar a limpeza nasal com uma água hipertónica duas vezes por dia até aliviar o congestionamento e deixar de tomar o Sinutab[®] II e o Vibrocil[®] *spray* ao mesmo tempo. Como o Sinutab[®] II e o Vibrocil[®] *spray* têm na sua constituição princípios ativos que pertencem à mesma família, sugeri-lhe tomar apenas o Paracetamol 500 mg para as dores de cabeça e o Vibrocil Actilong[®], 2 pulverizações por narina em 3 vezes ao dia. Se não apresentar diminuição de sintomas até 5 dias, deve dirigir-se ao médico.

4. Considerações Finais

O papel do farmacêutico junto das populações é sem dúvida essencial para a promoção da saúde e bem-estar. A FC reinventa-se todos os dias de modo a assegurar uma porta de entrada na saúde, e como tal, é essencial que todos os estudantes do MICEF, que são o futuro da profissão farmacêutica, passem por esta área nobre da farmácia.

O farmacêutico tem então a responsabilidade de intervir no percurso do medicamento desde a sua receção até à cedência ao utente, incluindo-se também a supervisão da utilização do mesmo.

Neste estágio de FC, apercebi-me do enorme valor da farmácia para a população que serve, pois muitas das vezes, é o primeiro local a que recorrem. Realizei durante este estágio diversas atividades que me possibilitaram perceber como funciona o dia-a-dia da farmácia e a função do farmacêutico comunitário. Por último, devo um especial agradecimento a toda a equipa da Farmácia da Nazareth que me acolheu da melhor maneira, transmitindo todos os ensinamentos para me tornar uma melhor profissional.

5. Bibliografia

- (1) PITA, João Rui; BELL, Victoria - **A farmácia em Portugal nos últimos 30 anos. Algumas reflexões sobre a farmácia de oficina ou comunitária.** *Debater a Europa*. 15 (2016) 197–215. doi:10.14195/1647-6336_15_11
- (2) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Boas práticas de farmácia comunitária - infraestruturas e equipamentos.** 2015. [Acedido a 20 de julho de 2021]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_geral_sobre_as_infraestruturas_e Equipamentos_20240917255ab147e12498f.pdf
- (3) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Boas práticas de farmácia comunitária - o farmacêutico e o pessoal.** 2015. [Acedido a 20 de julho de 2021]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/qualidade/norma_geral_sobre_o_farmaceutico_e_o_pessoal_de_apoio_5695580485ab147f4836e5.pdf
- (4) ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Boas práticas de farmácia comunitária - o medicamento e produtos de saúde.** 2015. [Acedido a 19 de julho de 2021]. Disponível na Internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_geral_sobre_o_medicamento_e_produtos_de_saude_165355005ab148048a252.pdf

MONOGRAFIA

“Microbioma e afeções pulmonares: existe alguma
associação?”

Sob a orientação da Professora Doutora Gabriela Conceição Duarte Jorge Silva

Abreviaturas

ADN – Ácido desoxirribonucleico

BPD – Displasia Broncopulmonar

CFTR – Regulador do Transporte Transmembranar da Fibrose Quística

DPOC – Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica

IgA – Imunoglobulina A

IgE – Imunoglobulina E

LPS – Lipopolissacarídeos

PAMPs – Padrões Moleculares associados a Patógenos

SCFAs – Ácidos Gordos de Cadeia Curta

TLRs – Recetores *toll-like*

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral alfa

Resumo

O estudo do Microbioma nos diferentes órgãos tem vindo a tornar-se mais relevante com o passar do tempo. O recém descoberto Microbioma Pulmonar, anteriormente desconhecido por pensar-se que os pulmões eram estéreis, apresenta um papel essencial tanto no estado saudável como no estado patológico. Esta descoberta foi possível graças ao desenvolvimento da tecnologia de deteção molecular do ácido desoxirribonucleico bacteriano.

O desenvolvimento deste microbioma inicia-se ainda no ventre materno, estabilizando durante a infância. Existe uma janela de oportunidade estreita para a formação correta do microbioma e para a estimulação do sistema imunitário, que irá influenciar uma posterior propensão para o desenvolvimento de afeções pulmonares e outras.

O Microbioma Pulmonar não existe sozinho, e como tal, estabelece trocas e interage com diversos estímulos e células existentes no corpo humano. Um dos órgãos que mais comunica com os microrganismos pulmonares é o Intestino. Este órgão em conjunto com os pulmões formam um eixo que explica as trocas e modulações verificadas nestes dois órgãos.

A presença de afeções pulmonares, como a Asma, a Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica, a Fibrose Quística e o Cancro do Pulmão, contribuem para uma desregulação do microbioma e para uma alteração taxonómica da comunidade presente nos pulmões. O estudo destas alterações tem um enorme potencial na previsão de possíveis exacerbações das patologias pulmonares, no diagnóstico e, provavelmente, no tratamento do doente. A modelação do Microbioma Pulmonar é cada vez mais apontada como uma alternativa terapêutica.

Palavras-chave: Microbioma Pulmonar; Disbiose; Eixo pulmão-intestino; Afeções; Asma; DPOC; Fibrose Quística; Cancro do Pulmão.

Abstract

The study of the Microbiome in various organs has become more relevant over time. The newly discovered Lung Microbiome, previously unknown because of an ideal lung sterility, plays an essential role in both healthy and pathological states. This discovery was possible by the development of molecular detection technology for bacterial deoxyribonucleic acid.

The development of this microbiome starts in the mother's womb, stabilizing during childhood. There is a narrow window of opportunity for the correct formation of the microbiome and for the stimulation of the immune system, which will influence a later propensity for the development of pulmonary and other affections.

The Lung Microbiome does not exist alone, and as such, it establishes exchanges and interacts with different stimuli and cells existing in the human body. One of the organs that most communicates with lung microorganisms is the Intestine. This organ, together with the lungs, form an axis that explains the exchanges and modulations observed in these two organs.

The presence of lung affections, such as Asthma, Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Cystic Fibrosis and Lung Cancer, contribute to a deregulation of the microbiome and to a taxonomic alteration of the community present in the lungs. The study of these alterations has enormous potential in predicting possible exacerbations of pulmonary pathologies, in diagnosis and, probably, in the treatment of the patient. The modeling of the Lung Microbiome is increasingly pointed out as a therapeutic alternative.

Keywords: Lung Microbiome; Dysbiosis; Lung-intestinal Axis; Affections; Asthma; COPD; Cystic Fibrosis; Lung Cancer.

I. Introdução

Os microrganismos sempre fizeram parte da vida de todo o ser humano, mas nem sempre se percebeu o seu papel no nosso organismo. Inicialmente, os microrganismos eram associados a uma variedade de doenças infecciosas, o que potenciou o desenvolvimento de fármacos para combatê-los. Assim surgiram os primeiros antibióticos e vacinas.(1)

Começou depois a tornar-se evidente que o corpo humano era um ecossistema complexo de microrganismos, um reservatório de bactérias, parasitas, vírus e fungos que tanto eram responsáveis por afeções no organismo como podiam simplesmente viver em simbiose com o mesmo.(2) Assim surgiu o conceito de microbioma que designa uma comunidade ecológica comensal, simbiótica ou patogénica de microrganismos que partilham o corpo humano.(3) Com o passar do tempo e do estudo do nosso organismo, chegou-se à conclusão de que existem variadíssimos microbiomas, desde o microbioma intestinal, pulmonar ou até mesmo um microbioma na pele.

Um crescente interesse no funcionamento do ecossistema intestinal revelou que o microbioma humano é uma peça fundamental no desenvolvimento da função barreira das mucosas, na maturação do sistema imunitário e na manutenção de estado nutricional saudável, contribuindo também para uma maior resistência às doenças infecciosas.(2)

Do estudo do microbioma intestinal, surge o interesse de estudar o microbioma respiratório de modo a perceber a sua influência nas diversas afeções respiratórias. As infeções do trato respiratório são um problema de saúde pública que atinge todo o globo, sendo que são a principal causa de morte na infância e a quarta causa mais comum de morte entre adultos. Tradicionalmente pensava-se que as infeções respiratórias eram uma consequência direta da aquisição, crescimento, disseminação e invasão de um específico conjunto de patógenos bacterianos e virais, mas percebeu-se que uma alteração do microbioma existente pode levar a uma infeção.(2)

Acreditava-se inicialmente que os pulmões eram locais estéreis, sem qualquer presença de microrganismos, apesar de estarem constantemente em contacto com o ar exterior, rico em diversas partículas microscópicas. Já as vias aéreas superiores sempre foram consideradas não estéreis.(4)

Esta hipótese de esterilidade deste órgão foi contestada através de inúmeras evidências experimentais que demonstraram que o trato respiratório inferior de indivíduos saudáveis não é estéril como se pensava.(2,4) Os pulmões são constantemente expostos à microbiota existente no ar inalado e sofrem contaminação do trato respiratório superior.(5) Tal como o

intestino, a microbiota residente poderá ajudar a manter a homeostase e prevenir infecções das vias aéreas, desempenhando um papel fundamental tanto na saúde como na doença.(2)

Os microrganismos que residem neste sistema podem desempenhar funções de defesa, metabolismo e reprodução no organismo do hospedeiro.(3) O microbioma pulmonar apresenta uma baixa densidade de colónias com uma elevada diversidade. Na presença de condições patológicas, perde-se diversidade nas colónias existentes, permitindo um aumento da concentração de outros géneros de bactérias.(4)

O entendimento dos mecanismos subjacentes na homeostasia entre os microrganismos e o sistema respiratório permite perceber as alterações que o microbioma pode sofrer e a sua composição tanto no indivíduo saudável como na presença de afeções.(4) Tal como no microbioma intestinal, o microbioma pulmonar também interage com o sistema imunitário modulando a sua resposta.(4)

O reconhecimento que o trato respiratório é um ecossistema dinâmico possibilitou que se gerasse novas hipóteses e novos modelos conceptuais da patogénese várias doenças respiratórias.(5) Este novo conhecimento abre também caminhos para a descoberta de novas opções terapêuticas e vias de tratamento utilizando o microbioma existente.

2. O Microbioma Pulmonar

Com o avanço tecnológico dos métodos de sequenciação e da bioinformática, tornou-se possível investigar os microrganismos que contactamos durante a nossa vida. O aumento do interesse neste tema levou à criação de um consórcio para o Projeto do Microbioma Humano, pelo *National Institutes of Health* dos Estados Unidos da América, que juntou especialistas de todos os cantos do mundo com o objetivo de estudar as comunidades microbianas e a sua relação com os hospedeiros humanos.(6)

O estudo do microbioma humano estendeu-se inicialmente aos microbiomas residentes no trato gastrointestinal, urogenital, oral e na pele. Mais tarde, incluiu-se o trato respiratório superior.(7,8)

A descoberta do Microbioma Pulmonar surgiu com o avanço tecnológico dos estudos baseados em técnicas moleculares que permitiram a identificação de ácido desoxirribonucleico bacteriano, revelando a presença de material genético de microrganismos presentes no trato respiratório inferior.(4,9) O estudo tardio deste microbioma é explicado pela grande dificuldade em obter amostras que permitissem caracterizá-lo através das técnicas

convencionais de cultura, que se baseavam no crescimento bacteriano da amostra colhida através da lavagem broncoalveolar. Como a carga bacteriana nos pulmões é muito inferior ao estabelecido no protocolo destas técnicas, os resultados obtidos não eram os mais fiáveis. De notar ainda, que a recolha deste tipo de amostra pode sofrer uma forte contaminação pelos microrganismos residentes no trato respiratório superior.(4)

A primeira definição de microbioma surgiu pelo trabalho de Wipps e seus colegas em 1988. Baseando-se na etimologia da palavra microbioma (“micro” e “bioma”), este conceito foi descrito como uma “comunidade microbiana característica” que possui um habitat bem definido com propriedades físico-químicas específicas, com um “teatro de atividade”. Esta definição distingue a comunidade microbiana de acordo com as suas propriedades, funções e interações com o ambiente envolvente, resultando na formação de nichos.(10)

Foram surgindo mais definições com o passar do tempo, mas nem toda foram bem aceites pela comunidade científica. Lederberg descreveu o microbioma como uma comunidade de microrganismos comensal, simbiótica e patogénica que partilham o mesmo compartimento corporal ou outro ambiente.(3,5,10)

Já Marchesi e Ravel, pretenderam salientar na sua definição que o genoma, a expressão de padrões genéticos e o proteoma são parte integrante do microbioma, presentes no mesmo ambiente onde predomina condições bióticas e abióticas.(10) Atualmente, a definição de microbioma mais citada é a de Lederberg.(10)

Outro conceito que surge muitas vezes encadeado ao microbioma é o conceito de microbiota. Entende-se como microbiota todos os membros vivos que formam o microbioma numa região ou habitat específico.(4,10)

A análise do microbioma bacteriano é baseada na identificação e sequenciação das regiões variáveis do gene 16S que codifica o ácido ribonucleico ribossómico bacteriano, gene esse que não está presente nos mamíferos, permitindo assim uma identificação específica.(3,4) Para realizar esta análise é necessário recolher uma amostra com o auxílio de um broncoscópio, de modo a reduzir contaminação faríngea. Utilizar a expetoração como amostra para esta análise não é exequível pois o risco de contaminação pelas vias aéreas superiores é grande.(5)

O microbioma pulmonar encontra-se em homeostasia num indivíduo saudável. Esta homeostasia pode ser explicada recorrendo a três teorias.

A primeira teoria apoia-se no equilíbrio entre a migração, eliminação e reprodução microbiana.(3) A migração é o processo principal da contaminação microbiana dos pulmões e

acontece devido à comunicação direta existente nas vias aéreas. A migração pode dever-se à microaspiração, à inalação de ar e à dispersão direta ao longo da mucosa.(3,5) A microaspiração é o fator que mais contribui para a composição da microbiota pulmonar, facto comprovado pela elevada semelhança entre a microbiota oral e pulmonar.(5,9)

A eliminação é um processo ativo e contínuo realizado em grande parte pelo epitélio ciliado respiratório, que produz constantemente uma camada de muco.(3,5) O reflexo da tosse também é responsável pela eliminação, mecanismo presente em indivíduos saudáveis que provoca a deslocação dos microrganismos para a faringe, onde podem ser engolidos ou expetorados. Este reflexo uniformiza o conteúdo do lúmen das vias aéreas. Outro dos intervenientes na eliminação são as células responsáveis pelas defesas imunes adaptativas e inatas que reconhecem, matam e eliminam os microrganismos.(5)

O balanço entre a migração e a eliminação são a principal fonte de manutenção da microbiota pulmonar. Isto verifica-se devido à falta de variação entre os vários locais do pulmão.(5,9) Ainda não foi determinado se a variação entre a microbiota pulmonar e a oral é persistente ao longo do tempo ou se está correlacionada com fenómenos clínicos como o refluxo esofágico, disfunção laríngea e higiene oral. A semelhança existente pode ser circadiana, com um pico durante a noite quando a imigração é reduzida e a eliminação aumentada.(5)

O último fator que influencia o equilíbrio do microbioma é a reprodução dos microrganismos.(3) A taxa de reprodução pode ser condicionada por inúmeras alterações ambientais, tais como a tensão de oxigénio, o pH, a perfusão sanguínea, a ventilação alveolar, a temperatura, a concentração e ativação das células inflamatórias do hospedeiro, alterando a composição do microbioma.(3,5) A influência da pressão seletiva local no crescimento bacteriano é reduzida quando comparada com a influência que a migração e eliminação têm na comunidade microbiana.(5)

A segunda teoria que explica a homeostasia assenta na disponibilidade de fatores nutricionais. Em condições saudáveis, o lúmen das vias respiratórias é composto essencialmente por ar, com uma baixa disponibilidade de nutrientes, não permitindo uma proliferação bacteriana. Já a terceira teoria inclui o mecanismo de resposta a estímulos gerados pelas moléculas sinalizadoras como as hormonas, neurotransmissores e citocinas pois os microrganismos residentes podem identificar e adaptar-se às moléculas sinalizadoras que as células humanas usam para comunicar.(3)

Os microrganismos que compõem a comunidade pulmonar desempenham funções metabólicas e colaboram com o hospedeiro em funções de defesa, metabolismo e reprodução.(3)

Um indivíduo saudável apresenta um microbioma pulmonar com uma enorme diversidade e baixa densidade de colónias. A diversidade da comunidade microbiana diminui ao longo do trato respiratório com o afastamento da fonte.(5) Perante uma situação de desequilíbrio pulmonar, reduz-se a diversidade a nível das colónias e aumenta-se a concentração de alguns géneros de bactérias em deterioramento de outros.(4)

As alterações que podem ocorrer ao nível do microbioma pulmonar de um indivíduo saudável dependem das condições fisiológicas ou patológicas e das interações existentes que podem ser importantes na saúde pulmonar e no desenvolvimento das doenças respiratórias, sendo que o tratamento destas doenças com antibióticos também pode alterar esta comunidade.(3,4) A descoberta que um pulmão alberga uma microbiota única independentemente do estado de saúde ou doença, impulsionou a pesquisa para caracterizar a microbiota nestes dois estados.(3)

Um pulmão saudável contém uma variedade de microrganismos comensais que demonstram uma elevada heterogeneidade entre indivíduos e nas diversas regiões pulmonares.(3) Inúmeros autores concluem que uma microbiota saudável apresenta uma baixa densidade de população microbiana, contendo alguns destes filós: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* e *Actinobacteria*.(3–5) Ainda não se concluiu que géneros compõem um microbioma saudável, mas percebeu-se que as características anatómicas e os padrões de respiração influenciam a composição.(3) Alguns estudos referem que os possíveis géneros existentes são a *Prevotella*, *Veillonella*, *Fusobacterium*, *Streptococcus* e *Haemophilus*.(5,9)

Já foi possível identificar-se alguma da microbiota existente num cenário patológico. As vias aéreas dos pacientes com doença respiratória contêm comunidades ricas em microrganismos pertencentes ao filo *Proteobacteria*.(5,11) Estudos realizados com pequenas populações demonstraram que os géneros predominantes num estado patológico são o *Streptococcus*, *Prevotella*, *Fusobacteria*, *Haemophilus*, *Neisseria* e a espécie *Veillonella predominante*.(4)

A diversidade pulmonar é um fator crucial para a manutenção da homeostasia do microbioma. Quando existe uma perda de diversidade, entra-se numa situação de disbiose. A disbiose caracteriza-se por um desequilíbrio na composição da microbiota causado por

alterações das condições locais, juntamente com uma resposta imune irregular.(4,5,10) Este desequilíbrio pode levar a uma cascata de alterações no ambiente, possibilitando a proliferação de patógenos.(10)

A existência de uma doença pulmonar altera a migração e eliminação do microbioma, bem como a superfície respiratória e as condições de crescimento local.(5)

Em condições severas da patologia, a migração aumenta graças à existência de uma disfunção gastroesofágica e de refluxo, algo muito comum entre os pacientes com doença pulmonar severa. Já a eliminação é prejudicada pela deficiência ao nível da *clearance* mucociliar e pela presença de tosse aguda ou crônica, que aumentará a eliminação com ajuda do aumento de influxo de ar e ativação das células inflamatórias.

Nas doenças destrutivas avançadas (enfisema e fibrose pulmonar), a superfície pulmonar diminui, o que leva a um aumento da carga bacteriana nos pulmões.(5)

A lesão e a inflamação estão associadas a um aumento de produção de muco. A produção de muco resulta num ambiente de anoxia, em que o aumento de temperatura, favorece a proliferação de certas comunidades. Os pacientes com doenças obstrutivas (fibrose quística, bronquite crônica, bronquiectasia e asma) criam um meio rico em proteínas com a secreção de muco, meio esse propício para o desenvolvimento de novas colônias nos pulmões.(3)

No caso da doença crítica, ocorrem alterações substanciais à fisiologia do paciente, provocando alterações ao nível das condições e estruturas das comunidades residentes. Este tipo de ambiente cria uma pressão seletiva específica no microbioma residente.(11)

Para além das alterações intrínsecas à doença respiratória, as terapias utilizadas para combater as doenças pulmonares afetam as condições de crescimento microbiano.(4,5) A suplementação de oxigénio, os corticoides sistémicos e inalados, os antibióticos inalados e sistémicos têm efeitos pleiotrópicos no influxo, efluxo e na taxa de reprodução relativa da microbiota pulmonar.(5)

3. O Microbioma Pulmonar no Recém-nascido

O microbioma pulmonar começa a formar-se com o desenvolvimento pulmonar do recém-nascido sendo influenciado por inúmeros fatores como a genética e história familiar, o parto e o desenvolvimento da criança. Ainda não se entende todos os mecanismos que contribuem para a formação do microbioma pulmonar no recém-nascido.(12)

Acreditava-se que as superfícies das mucosas dos bebês eram populadas pelas comunidades cutâneas, vaginais e intestinais maternas.(12) Este facto foi contestado com a descoberta de que o microbioma das vias aéreas dos recém-nascidos por parto vaginal ou por cesariana eram semelhantes, sugerindo que o ADN microbiano é maioritariamente transplacentar, facto consistente com as projeções que a placenta tem um microbioma rico.(12)

Inicialmente, no útero, os pulmões encontram-se preenchidos com fluido amniótico. A análise deste fluido e de amostras da placenta, recorrendo a técnicas independentes de cultura, demonstraram que existe DNA bacteriano. Esta descoberta apoia a hipótese de um desenvolvimento pulmonar na presença de microrganismos ainda no ventre materno.(5) A análise ao fluido amniótico e à placenta revelou microrganismos semelhantes aos que estão presentes na cavidade oral.(5,12) A microbiota do fluido amniótico e das vias aéreas pode ter uma origem comum graças à placenta, mas existem fluxos de transferência que ainda precisam de ser determinados.(12)

Após o nascimento, os pulmões ainda não se encontram completamente desenvolvidos.(13) Percebeu-se que as vias aéreas do recém-nascido contêm DNA bacteriano nas primeiras 24 horas após o parto, revelando uma colonização inicial(9) que se estabiliza no primeiro mês de vida dependendo das fontes nutricionais do recém-nascido.(14)

Estes órgãos são sujeitos a inúmeros desafios para se adaptarem aos novos microrganismos e componentes ambientais, como os alergénios, que existem no meio e afetam a saúde no período pós-natal.(13) Esta exposição inicial é crucial para o desenvolvimento e educação do sistema imunitário que acompanha a formação da microbiota,(9,14) influenciando a estabilidade das vias aéreas superiores e a suscetibilidade para infeções pulmonares.(13) Existem dados que sugerem uma interligação entre os microrganismos e o hospedeiro em situações saudáveis, com a microbiota pulmonar a ser parcialmente moldada pelo sistema imunitário.(9) Estudos recentes realizados em animais demonstraram que o microbioma é essencial para o desenvolvimento do sistema imunitário, sendo que as interações entre os alergénios e o microbioma modelam a resposta imunitária.(15) O microbioma pulmonar desempenha também um papel modulador na expressão de determinados genes da imunidade inata.(13)

O microbioma do recém-nascido tem parecenças com o microbioma materno e com a via utilizada para o parto.(5) Amostras obtidas por aspiração traqueal da microbiota respiratória mostrou semelhanças nos bebês prematuros nascidos por via cesariana e vaginal. Já a microbiota nasofaríngea apresentou ligeiras diferenças tendo em conta o tipo de parto

realizado.(13) Nos bebés prematuros, a via de parto influenciará mais o microbioma respiratório, pois, estes bebés possuem um sistema imunitário e pulmões subdesenvolvidos que podem ser facilmente alterados por uma exposição prematura ao ambiente.(9) Ainda não é possível determinar se a via do parto desempenha um papel forte ou fraco na diferenciação, apenas percebe-se que influencia a comunidade microbiana.(13)

Um parto realizado por cesariana está associado a um aumento do risco de perturbações atópicas e de desenvolvimento de asma até aos 8 anos, provavelmente causado pela alteração do microbioma fetal. Estas perturbações atópicas são ainda mais prováveis em crianças em que um dos pais apresenta afeções alérgicas,(15) com um risco aumentado nos bebés nascidos por cesariana.(14) Segundo vários estudos, o risco de desenvolver alergias alimentares e asma aumenta com um parto por cesariana comparado com o parto vaginal. A associação do aumento do risco entre a dermatite atópica e a cesariana ainda não foi demonstrada.(14) O mecanismo que torna a cesariana um fator de risco para o desenvolvimento de alergias prende-se com o impacto direto que tem no desenvolvimento inicial da microbiota do recém-nascido. Outro possível mecanismo, é o facto de os bebés por cesariana receberem um tratamento de profilaxia com antibióticos e não serem sujeitos ao stress perinatal criado pelo parto vaginal.(14)

Apesar do limitado impacto do modo de parto, a microbiota nasofaríngea altera-se depois do nascimento, podendo surgir subtis diferenças no perfil microbiano respiratório com o passar do tempo entre estas crianças.(13)

Uma colonização bacteriana nasofaríngea precoce está associada a respostas imunes alteradas, a uma maior probabilidade de apresentar uma respiração ofegante e de desenvolver infeções respiratórias mais graves, potenciando o envelhecimento pulmonar. É muito provável que a afeção respiratória se deva a um defeito imunitário na mucosa.(15)

A idade gestacional, aquando do parto, explica algumas das discrepâncias existentes na composição da microbiota pulmonar(9), sendo que o microbioma é semelhante independentemente do período de gestação.(12) Inicialmente, a microbiota do recém-nascido é homogénea, sofrendo uma rápida diferenciação até cerca dos 3 anos, onde estabiliza e mantém-se assim ao longo da vida adulta.(5,14) Neste período de vida ocorre um aumento da diversidade e da riqueza da microbiota ao longo do tempo. O desenvolvimento da microbiota é altamente dependente de eventos como infeções, febres e antibioterapia. (14)

A microbiota residente nos pulmões dos bebés apresenta predominantemente os filos *Proteobacteria* e *Firmicutes*,(13) com particular expressão dos géneros *Streptococcus*, *Prevotella*,

Neisseria, *Veillonella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*.(9) Têm ainda a presença residual dos seguintes filos: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Tenericutes*, *Cyanobacteria* e *Verrucomicrobia*.(12) Os recém-nascidos com menos de 35 semanas nascidos por cesariana possuem uma microbiota rica em *Staphylococcus* enquanto que o parto vaginal cria um perfil de microbiota dominado pela *Ureaplasma spp.*(9) Já os bebês que nasceram com peso extremamente baixo por cesariana ou por parto vaginal têm um microbioma que não difere no momento do nascimento, suportando a teoria de passagem transplacentar de material bacteriano.(12) No caso de crianças com displasia broncopulmonar (BPD) a composição microbiana é diferente e menos diversa comparativamente com as outras crianças, apresentando uma menor abundância de *Lactobacillus* em bebês predispostos a BPD.(12)

A amamentação, os cuidados pré-natais e o tratamento com antibióticos são alguns dos fatores que mais influenciam a microbiota do trato respiratório superior.(5) O microbioma pulmonar pode ser ainda manipulado para corrigir a disbiose e restaurar o ambiente saudável utilizando probióticos, prebióticos e antibióticos.(12)

Outro fator que desempenha um papel fundamental na modulação do microbioma pulmonar é a exposição ambiental. Estabeleceu-se uma relação entre os baixos níveis de exposição aos microrganismos no meio urbano, em comparação com o meio rural, com a elevada incidência de alergias e asma. Crianças nascidas e criadas em quintas são menos propensas a desenvolver sintomas atópicos e asma ao longo da vida. Estas observações suportam a hipótese que a exposição dos recém-nascidos a sinais microbianos tem um grande impacto na suscetibilidade no desenvolvimento de asma.(13) Outro fator de risco para a alergia ou a asma é a colonização com *Clostridioides difficile* no 1º mês de idade, que está associado ao desenvolvimento de respiração ofegante asmática e dermatite atópica ao longo da vida. Esta bactéria está associada ao parto por cesariana e ao local do parto.(14)

O risco de ter alergias inicia-se logo no útero e continua depois do nascimento, sendo que fatores como o tipo de parto e uso de antibióticos afetam o microbioma dos tratos respiratório e gastrointestinal. Estes efeitos podem ser cumulativos e dependentes da dose e podem influenciar a homeostasia imunitária, o risco de asma e de desenvolvimento de alergias.(14) Por sua vez, a diversidade bacteriana e fungicida reduz o risco do desenvolvimento de asma. Os efeitos a longo prazo de um microbioma anormal na idade pulmonar ainda não são conhecidos, mas entende-se que aumenta o risco de asma.(15)

As condições de vida como a agricultura tradicional, métodos agrícolas, estilo de vida, presença de animais, via de nascimento e uso antecipado de creches também influenciam o microbioma. Existe também uma relação inversa entre a exposição microbiana e a

probabilidade de desenvolver asma num ambiente com uma agricultura tradicional europeia.
(14)

A suscetibilidade pós-natal afeta fortemente a resposta aos alérgenos presentes no ar e está correlacionada com a instalação de microbiota no final do desenvolvimento pulmonar.(13) A estimulação microbiana dos pulmões num determinado momento promove tolerância alérgica.(13,14) O impacto da microbiota pulmonar na capacidade imune do pulmão apresenta uma janela de oportunidade que aparenta ter um papel fundamental na suscetibilidade para desenvolver doenças alérgicas, como a asma em adulto.(13) Esta janela de oportunidade é vulnerável e ocorre no começo da vida para desenvolver uma imunidade tolerante.(14)

4. Eixo Intestino-Pulmão

O organismo humano funciona como um sistema único constituído por vários outros sistemas que interagem e influenciam a função um dos outros. Dois dos sistemas que comunicam entre si e que formam um eixo são os pulmões e o intestino.

Estes órgãos estabeleceram entre si um elo de comunicação que possibilita a manutenção da homeostasia e educação do sistema imunitário.(3) O eixo intestino-pulmão é formado por conexões entre os sistemas anatómicos, sistémicos e nervosos mediante trocas recíprocas de sinais entre estes dois órgãos.(13)

Um dos meios de comunicação que permite a troca de sinais entre a microbiota pulmonar e intestinal baseia-se no transporte de metabolitos, compostos solúveis microbianos, bactérias e fragmentos bacterianos através da circulação sanguínea e da linfa.(9,13,16) O sistema linfático mesentérico é uma via essencial na comunicação entre o intestino e os pulmões, pois permite que inúmeros componentes alcancem a circulação sistémica e modulem a resposta imunitária pulmonar.(17)

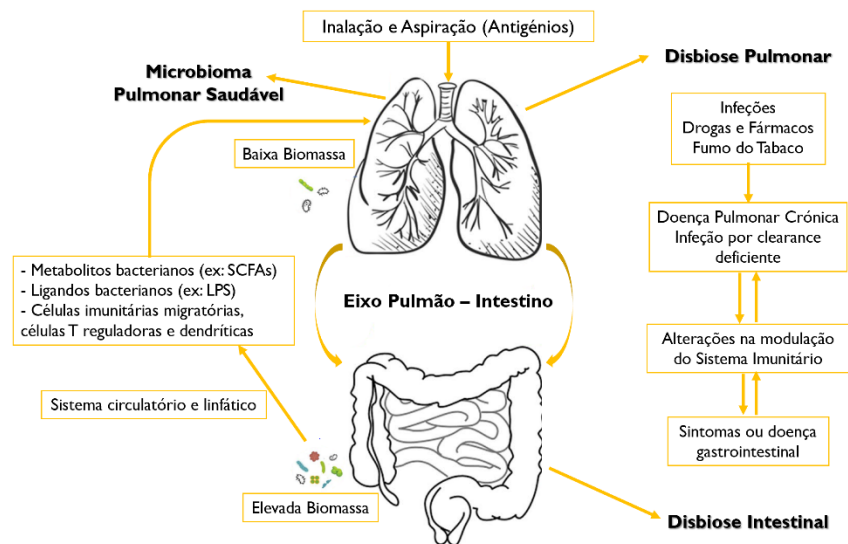


Figura 1 – Descrição do Eixo Pulmão – Intestino. (Adaptado de: A. Fabrizzi, A. Amedei, F. Lavorini, T. Renda, G. Fontana – The lung microbiome: clinical and therapeutic implications).(3)

Acrescenta-se ainda a passagem de informações imunológicas de longo alcance e da migração direta de células imunitárias por este eixo.(9,16) A transferência de células imunitárias entre estes dois órgãos pode desempenhar um papel benéfico no reforço da capacidade do combate da infecção no hospedeiro. A translocação de microrganismos via refluxo orofaríngeo também contribuiu para esta comunicação.(13) Esta interligação verifica-se na saúde do indivíduo, mas também pode ocorrer comunicação na presença de afeções e doenças.(9)

Os compostos microbianos que sofrem transporte pelo sangue ou pela linfa são os padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) que incluem os peptidoglicanos e os lipopolissacarídeos (LPS) que serão reconhecidos pelas células do hospedeiro através da expressão de *toll-like receptors* (TLRs) e *nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors*.(9) A maior parte dos metabolitos microbianos são pequenas moléculas que atuam como moléculas sinalizadoras e substratos nas reações metabólicas, influenciando profundamente a fisiologia do hospedeiro.(16)

Apesar do trato gastrointestinal e respiratório apresentarem ambientes e funções distintas, possuem uma relação altamente dinâmica e íntima com uma origem embrionária comum, ambos provenientes da endoderme, com algumas semelhanças estruturais e fisiológicas.(16,18)

Os epitélios dos tratos respiratório e gastrointestinal são expostos a uma enorme variedade de microrganismos, partilhando uma via de entrada comum, a boca e a

faringe.(16,18) Muitos dos organismos que alcançam estes epitélios provêm da ingestão, sendo que uma parte da microbiota intestinal pode alcançar os pulmões através da aspiração.(18) As mucosas respiratórias e intestinais providenciam uma barreira física contra a penetração microbiana e a colonização com a microbiota normal gera resistência aos patógenos(18), com projeções de microvilosidades no intestino e ciliares na maior parte do trato respiratório.(16,18) Ambos participam na organização de uma resposta imunitária local em conjunto com os tecidos linfoides. A produção de imunoglobulina A (IgA) secretora acontece tanto no tecido respiratório como no intestinal, bem como a produção de muco pelas células caliciformes.(16,18) Os anticorpos IgA desempenham um papel claro na proteção das vias aéreas.(19)

Comparando o número total de bactérias entre os dois tecidos, infere-se que o pulmão tem um menor número e menor densidade bacteriana que o intestino,(17,19) cerca de 100 vez menor.(20) É atribuído ao microbioma pulmonar, apesar da baixa concentração microbiana, um papel importante na preparação e maturação das células imunitárias do hospedeiro.(17,19) Se o ecossistema pulmonar sofrer um desequilíbrio está mais suscetível para o desenvolvimento de uma doença respiratória.(19)

Nos pulmões, os filos bacterianos que predominam no hospedeiro saudável são semelhantes aos presentes no intestino, com elevada abundância do *Firmicutes* e do *Bacteroidetes*, seguidos pelo *Proteobacteria* e *Actinobacteria*.(17,20) A modulação do microbioma pulmonar não é limitada à interligação entre os vários reinos presentes, mas depende também da ligação intercompartimental entre o intestino e os pulmões.(17)

Desde o momento do nascimento que se verifica uma forte relação entre a composição do microbioma do intestino e dos pulmões. A dieta dos recém-nascidos é capaz de influenciar a composição da microbiota pulmonar, sendo que foi demonstrado em ratos que a transplantação fecal induzia alterações neste microbioma.(17) Esta técnica tem sido amplamente utilizada de modo a perceber o papel da microbiota intestinal mas ainda não foi aplicada no estudo do microbioma respiratório.(18)

A diversidade da microbiota pulmonar é um fator de elevada importância pois funciona como mecanismo de proteção contra uma patologia visto que dilui os estímulos pró-inflamatórios criados pelos patógenos,(18) afetando a resposta imune e o desenvolvimento da inflamação.(19)

A comunidade microbiana intestinal é complexa e estabelece-se durante os dois ou três primeiros anos de vida. Durante a vida adulta, a composição do microbioma intestinal é

estável e desempenha uma função importante na homeostasia imunitária e metabólica, bem como na defesa contra patógenos.(16) O papel do microbioma na imunidade local e sistêmica é exemplificada em ratos livres de microrganismos que apresentam um déficit no desenvolvimento do sistema imunitário e alterações na mucosa, que podem ser restaurados com a colonização do microbioma intestinal.(18)

A maior parte dos genes amplificados nas fezes humanas de modo a identificar a microbiota intestinal, pertencem à comunidade bacteriana, contando com cerca de 150 espécies diferentes.(17) Estas espécies pertencem maioritariamente aos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes* que compõe 90% da flora intestinal.(3,16–18) Existem também outros filos que formam esta flora como o *Proteobacteria*, *Actinobacteria*,(3,16–18) *Cyanobacteria*, *Fusobacteria* (17) e o *Verrucomicrobia*.(3,16,18) É extremamente difícil fazer a identificação exata dos filos que caracterizam a microbiota, sendo que a categorização por género apresenta desafios ainda maiores.(3)

A composição do microbioma intestinal durante a infância e a cesariana foram relacionadas com a manifestação dos primeiros sintomas atópicos, sendo que uma colonização por *Clostridioides difficile* no primeiro mês de vida demonstrou causar uma respiração ofegante e eczema, com um possível desenvolvimento de asma aos 6 ou 7 anos.(18) Uma baixa diversidade a nível do microbioma intestinal, durante o primeiro mês de vida, está interligado com o aparecimento de asma durante a infância.(19)

A par das espécies que formam a bacteriobiota, existem também espécies fúngicas que contribuem para a diversidade do microbioma intestinal saudável como a *Saccharomyces cerevisiae*, *Malassezia restricta* e a *Candida albicans*.(17) A comunidade fúngica existente no microbioma intestinal é ainda capaz de assumir funções bacterianas na modulação imunitária e na prevenção de lesões na mucosa, tanto em patologias como no estado saudável do hospedeiro. Ainda não foi possível definir o papel concreto dos reinos viral e fúngico no eixo intestino-pulmão, exigindo mais investigação.(17)

Apesar de não ser possível definir uma população microbiana específica para um microbioma intestinal saudável, a estabilidade do género bacteriano em cada enterotipo parece ser crucial para um estado de saúde. A modificação da microbiota individual cria uma disbiose e pode ser a causa ou consequência de muitas afeções. (3)

A abundância e diversidade da microbiota comensal aumenta ao longo do trato gastrointestinal, sendo que estas diferenças verificam-se graças a fatores como o pH, a concentração de ácidos biliares, o tempo de retenção digestiva, a presença de mucina e os

fatores de defesa do hospedeiro.(18) A formação do microbioma intestinal depende fortemente da dieta e do estilo vida, segundo estudos baseados em modelos animais e presume-se que aconteça o mesmo nos humanos.(3)

Acredita-se que um microbioma saudável possui a capacidade de desencadear efeitos imunomoduladores tolerantes e de proteger contra as doenças sistêmicas inflamatórias no intestino.(19)

As interações no eixo intestino-pulmão são bidirecionais sendo que os pulmões influenciam o intestino através da migração de linfócitos e de citocinas inflamatórias.(3,16,19) O caráter bidirecional deste eixo permite que sinais provenientes de um pulmão inflamado provoquem alterações diretas na estrutura da comunidade bacteriana intestinal, favorecendo a inflamação nos pulmões.(19) A ligação bidirecional pode ser comprovada a partir das observações realizadas a partir de uma inoculação nasal por *Salmonella*, que promoveu uma imunização intestinal específica para a mesma dependente das células dendríticas pulmonares, e da análise de uma infecção respiratória causada pelo vírus *Influenza* que modelou a composição da microbiota intestinal.(17)

Esta migração imunológica entre o trato gastrointestinal e o trato pulmonar acontece graças à via da mucosa imunitária comum,(3,19) ocorrendo através do sistema linfático que se apresenta como o órgão conector entre o intestino e o pulmão.(3) Graças a esta mucosa comum, os efeitos exercidos pela microbiota intestinal e os seus metabolitos influenciam a resposta imunitária em locais mais distantes como os pulmões.(16,17) Os sinais criados no intestino são transferidos para os pulmões, resultando num *feedback* ao intestino, que por sua vez, reenvia sinais alterados.(19) Esta comunicação pode alterar a resposta dos neutrófilos, modulando a sua capacidade para extravasar do sangue.(17)

Como já foi referido anteriormente, a ligação neste eixo é realizada pelos vasos linfáticos e pela circulação sanguínea, sendo que uma imunização primária no intestino provoca uma ação conseqüente nos pulmões.(19) Descobertas clínicas e epidemiológicas em humanos bem como dados em ratos permitiu perceber que a produção de anticorpos específicos no trato respiratório ocorre em paralelo com a resposta intestinal à exposição antigénica.(19) Ratos livres de microrganismos intestinais exibiram um aumento local das células T *helper 2* associadas à citocina com um aumento da produção de imunoglobulina E (IgE), promovendo a inflamação aérea alérgica. Uma inflamação exacerbada nos pulmões pode transformar completamente a composição da microbiota pulmonar.(17)

A interação entre o epitélio e a flora intestinal é muito importante para a primeira linha de contacto pois pode determinar a indução de tolerância e a integridade da mucosa ou da atividade imunológica, bem como a inflamação do tecido e permeabilidade anormal.(19)

As últimas evidências sugerem que o epitélio intestinal do hospedeiro, outras estruturas e células imunitárias adquirem informações provenientes diretamente dos microrganismos e da resposta local, concomitantemente com informações das citocinas para ajustar na resposta inflamatória, modelando a resposta imune em outros locais, como é o caso dos pulmões.(18) A flora intestinal é também responsável pela indução da reação inflamatória pulmonar contra patógenos, favorecendo a infiltração de neutrófilos através dos TLRs 4 em ratos. Acrescenta-se também o papel das células T *helper* 17, células provenientes do intestino, que são cruciais para a proteção da mucosa com o recrutamento de neutrófilos e secreção de fatores antibacterianos pelo epitélio brônquico.(19) A diversidade e abundância de espécies na microbiota intestinal determina os sinais imunomoduladores gerados que alteram o estado de saúde do hospedeiro.(18)

O intestino altera a resposta pulmonar através dos mediadores inflamatórios presentes na circulação. O extravasamento dos mediadores para os pulmões pode influenciar a plasticidade e magnitude da resposta imunitária, constituindo um mecanismo de alteração do microambiente e da determinação da natureza da inflamação.(9) Os fatores intestinais responsáveis pelas lesões navegam até ao pulmão pela circulação sistémica e pelos vasos linfáticos intestinais.(19)

Os microrganismos que compõem o microbioma intestinal ajudam na assimilação de nutrientes não digeríveis como as fibras, produzindo metabolitos capazes de modular a imunidade pulmonar e gastrointestinal.(3,9) Os metabolitos que provêm da fermentação microbiana das fibras dietéticas são os ácidos gordos de cadeia curta (SCFAs) (3,9,17,18) que apresentam propriedades anti-inflamatórias sistémicas, propriedades energéticas a nível dos colonócitos(9,18) e propriedades de regulação dos ácidos gordos e da síntese lipídica no hospedeiro.(18) Exercem também um efeito direto e indireto na função de diversas células, desde células epiteliais, imunitárias inatas e adaptativas,(16) contribuindo para o recrutamento e maturação das células imunitárias.(3)

Os SCFAs funcionam como moléculas sinalizadoras nas células apresentadoras de antígenos a nível pulmonar, atenuando a resposta alérgica e inflamatória.(17) O papel direto dos SCFAs nos pulmões não é substancial já que os mesmos não se acumulam nas vias aéreas nem são produzidos pelos pulmões. Os SCFAs exercem efeito direto nas células imunitárias da periferia que podem vir a ser recrutadas pelos pulmões. Influenciam também a produção

de precursores hematopoiéticos na medula óssea de modo a resolver a inflamação aérea e manter a homeostasia.(16) Uma deficiência no recetor de SCFAs em modelos animais causou um aumento da resposta inflamatória em modelos de asma experimentais.(17)

A metabolização dos SCFAs pelo microbioma do ceco e do cólon produz propionato, butirato e acetato,(9) compostos importantes para a manutenção do eixo pulmão-intestino.(16) Nos ratos, a administração oral de propionato protegeu-os contra a inflamação alérgica das vias aéreas através do enfraquecimento do recrutamento de células dendríticas promotoras da função efetora das células T *helper* 2.(9)

Demonstrou-se também que a modulação da função das células dendríticas com uma mistura de butirato, propionato e acetato, em ratos tratados com vancomicina oral, permitiu uma resposta alérgica atenuada a nível pulmonar.(9,16) O butirato gera também proteção contra a infeção pelo vírus *Influenza*, favorecendo a hematopoiese de precursores inflamatórios pulmonares dos macrófagos na medula óssea e por controlar as imunopatologias criadas pelos neutrófilos que se infiltram.(9)

Os ácidos gordos não metabolizados pelo microbioma entram na medula óssea através da circulação periférica e alcançam locais distantes, exercendo atividade no desenvolvimento das células imunitárias.(9)

Uma dieta rica em fibras é capaz de modificar a composição do microbioma pulmonar e intestinal pois altera a razão entre *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, conferindo uma proteção adicional contra a inflamação alérgica graças ao aumento da concentração de SCFAs. Isto evidencia o potencial terapêutico das fibras na doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) ou na asma.(16)

Descobertas recentes permitiram elucidar a coordenação imunológica entre o intestino e o pulmão.(19) Um estudo desenvolvido em ratos que estudou o impacto do transplante fecal consoante uma alimentação rica numa dieta à base de óleo de peixe ou numa dieta à base de banha concluiu que os ratos alimentados a óleo de peixe apresentavam uma diminuição dos níveis de inflamação com o aumento da concentração da *Akkermansia muciniphila*. Já os ratos alimentados à base de banha, obtiveram um aumento dos níveis de *Lactobacillus reuteri*, acompanhado de um aumento da inflamação.(21) Isto permitiu concluir a existência de uma ligação entre as gorduras presentes na dieta, a composição da flora intestinal e a inflamação.(19)

As exacerbações a nível pulmonar partilham semelhanças com as exacerbações das doenças inflamatórias intestinais. Ambas apresentam uma profunda disbiose e desregulação,

favorecendo a resposta inflamatória do hospedeiro. Verifica-se também uma disrupção entre o equilíbrio homeostático do microbioma e dos mecanismos imunitários do hospedeiro.(19) Uma disbiose do microbioma intestinal pode levar a uma proliferação e expansão dos vários tipos de células T, bem como um aumento da inflamação que contribuiu negativamente para a saúde do hospedeiro.(3)

As alterações em ambos os microbiomas iniciam-se desde o nascimento e decorrem durante toda a vida adulta, sendo influenciados pelos fatores ambientais, dieta, drogas e fármacos,(18) cirurgias e patologias.(16) Destas alterações podem resultar inúmeras afeções tanto a nível pulmonar como intestinal.

Os antibióticos são os medicamentos de eleição para o tratamento de um variadíssimo número de infeções mas também contribuem para o desequilíbrio do microbioma intestinal e pulmonar. O benefício destes fármacos não se prende pela erradicação de uma espécie específica, mas sim pela manipulação de toda a comunidade bacteriana e pelos seus efeitos imunomoduladores indiretos. O uso exagerado de antibióticos pode perturbar a homeostasia microbiana, induzindo um colapso do sistema imunitário.(19) As alterações induzidas por antibióticos no microbioma intestinal no início da vida aumentam o risco de desenvolvimento de doenças respiratórias alérgicas.(18)

O tratamento com antibióticos causa uma enorme redução na resposta imunológica contra o vírus *Influenza* nos ratos. Paralelamente, ratos com uma alimentação rica em fibras infetados pelo vírus *Influenza* apresentam uma taxa de sobrevivência alta comparativamente aos controlos infetados, graças à melhoria dos monócitos vigilantes provocada pela dieta rica em fibras. Estes monócitos aumentam o recrutamento de macrófagos, reduzem a chamada de neutrófilos às vias aéreas, diminuindo a lesão no tecido. Acrescentando a esta função, uma dieta que gera SCFAs promove a função efetora das células T CD8+.(17)

Tanto o microbioma pulmonar como o intestinal são fulcrais no combate da pneumonia bacteriana. O microbioma pulmonar confere proteção contra as afeções respiratórias provocadas por *Streptococcus pneumoniae* e *Klebsiella pneumoniae* através da produção pulmonar do fator estimulante de colonização pelos macrófagos granulocitários. Estudos realizados em ratos sem microbioma demonstraram um aumento de mortalidade e morbidade durante a infeção pulmonar aguda por *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae* ou *Pseudomonas aeruginosa*.(17)

O modo como a alimentação se realiza também influencia a homeostasia intestinal. Uma alimentação entérica permite modular a microbiota intestinal, reduzindo

significativamente a incidência de pneumonia comparando com os doentes alimentados parentericamente.(19) A doença crítica induz variadíssimas alterações na camada da mucosa intestinal como a redução da espessura, diminuição da cobertura luminal e uma fraca aderência com alteração da função barreira da mucosa.(19)

A disbiose do microbioma intestinal é crucial para o estabelecimento da patogénese de doenças crónicas intestinais como as doenças inflamatórias intestinais, a doença de Crohn e a colite ulcerosa.(19) Uma resposta robusta aos LPS, componentes chave da membrana bacteriana das células *gram* negativas, pelos macrófagos pode ser conseguida graças aos microrganismos comensais. Os componentes bacterianos podem ainda ter efeitos anti-inflamatórios que atenuam os sintomas das afeções intestinais. O polissacarídeo A do *Bacteroides fragilis* induz a produção de interleucina-10 nas células T e protege contra a doença inflamatória intestinal causada quimicamente ou pela *Helicobacter hepaticus*.(18) Os esfingolípidos produzidos pelo género *Bacteroides* reduzem o número de células T *natural killer* no cólon, células estas que propiciam o desenvolvimento de colite.(18)

As doenças crónicas pulmonares, como a asma e a DPOC, são muito comuns e costumam aparecer concomitantemente com doenças crónicas do trato gastrointestinal, como a doença inflamatória intestinal ou a síndrome do intestino irritável. Os doentes diagnosticados com DPOC têm 2 a 3 vezes mais probabilidade de serem diagnosticados com doença inflamatória intestinal.(18) A hiperpermeabilidade intestinal, característica desta patologia, resulta de uma alteração funcional na mucosa intestinal, apresentando nestes doentes um aumento da prevalência de afeções intestinais como a colite ulcerosa e a doença de Crohn.(19)

No caso da afeção asmática, a presença de certas espécies bacterianas consideradas benéficas no intestino, como o *Bifidobacterium longum*, permitiu reduzir o aparecimento desta doença, apesar de ser necessário mais estudos para comprovar esta ligação. Já uma infeção por *Streptococcus pneumoniae* não patogénico, outras bactérias e componentes são capazes de suprimir a doença alérgica através da indução de células T reguladoras.(18)

A situação de saúde do hospedeiro tem um forte impacto no eixo pulmão-intestino. No caso dos recém-nascidos com fibrose quística, a colonização do intestino pela *Roseburia*, *Dorea*, *Coprococcus*, *Blautia* ou a *Escherichia* indicia a composição respiratória e a abundância dos mesmos no intestino e no pulmão, que tem tendência a aumentar com o tempo.(17)

Pacientes com doença pulmonar avançada têm frequentemente uma elevada taxa de imigração bacteriana graças ao aumento da introdução de microrganismos provenientes do

intestino nos pulmões. Está claro que as defesas inatas do hospedeiro sofrem alterações durante a doença crónica pulmonar que promove disbiose bacteriana.(19) Também nos doentes pulmonares transplantados, o microbioma sofre alterações que afeta a sua imunidade.(18)

Uma gripe causada pelo vírus *Influenza* despoleta alterações no outro órgão pertencente ao eixo intestino-pulmão, causando um aumento da *Enterobacteriaceae* e uma redução da abundância de *Lactobacilli* e do *Lactococci* no intestino. Paralelamente, a ativação intestinal dos TLRs pela microbiota intestinal aparenta contribuir para a resposta imunitária contra a infeção pelo vírus *Influenza* no sistema respiratório.(16) Consistentemente, a instalação de LPS nos pulmões de um rato é associado a uma disbiose da microbiota intestinal.(17) Estas associações reforçam o carácter bidirecional deste eixo.

No caso de ratos tratados oralmente com neomicina, apresentam depleção de todas as bactérias *gram +* passivas de cultura do colón, sem capacidade de desenvolver uma resposta imunitária robusta ao vírus *Influenza A*. Uma inoculação única retal de LPS, que mimetiza o efeito da elevada presença de bactérias comensais presentes no colón, permitiu a recuperação da resposta imunitária envolvendo anticorpos e a resposta das células T. Existem outros agonistas TLRs capazes de restaurar a imunidade ao vírus *Influenza* nos pulmões, indicando que o estímulo dos TLRs, gerado por produtos bacterianos intestinais, aparenta ser suficiente para suportar a formação da resposta imune nos pulmões.(16)

Verificou-se ainda uma translocação acentuada de bactérias do trato gastrointestinal para os pulmões durante a *sepsis* e em síndromes agudas de *stress* respiratório, onde a integridade da mucosa está comprometida.(18)

A utilização de probióticos tem sido cada vez mais estudada e demonstra promover a modulação benéfica do sistema imunitário.(19) Após um tratamento com probióticos contendo *Bifidobacterium lactis* HN019 ocorreu uma modulação do sistema imunitário com o aumento de leucócitos mononucleares, da sua atividade fagocítica e de lise. A dieta, principalmente a ingestão de fibras, aumenta os níveis de SCFAs sistémicos, sendo que o uso de probióticos influencia a resposta imune e atua na progressão de afeções respiratórias.(17)

As pesquisas que estão a decorrer avaliam os efeitos de membros selecionados que pertencem ao microbioma comensal do intestino numa imunidade sistémica, incluindo os pulmões, e também estudam o uso de probióticos e prebióticos na prevenção e tratamento de doenças pulmonares crónicas e agudas. Os fragmentos bacterianos segmentados intestinais, presentes naturalmente ou graças aos probióticos ou em *co-housing* de ratos, provaram

estimular a resposta pulmonar das células T *helper* 17 e proteger contra uma infeção por *Streptococcus pneumoniae*.(18)

5. Microbioma Pulmonar nas afeções pulmonares

O microbioma pulmonar sofre alterações tendo em conta o estado de saúde ou doença de cada indivíduo e as pressões a que está sujeito. Este microbioma aparenta ter um duplo papel por ser um cofator tanto na inflamação como na resposta imunitária, contribuindo possivelmente para o declínio da função pulmonar e a progressão da doença.(19)

O crescimento acentuado de determinadas espécies bacterianas gera um decréscimo na riqueza das espécies do microbioma pulmonar, associando-se a uma progressão de doenças como a fibrose cística e as infeções.(13)

A acumulação da evidência a cerca da colonização microbiana nos tecidos da mucosa durante a infância é importante para o desenvolvimento, manutenção, e controlo do sistema imunitário. A disbiose pulmonar foi associada ao desenvolvimento de inúmeras afeções, incluindo doenças alérgicas e asma.(20)

De entre as várias afeções pulmonares influenciadas pelo microbioma pulmonar, a Asma, a DPOC, a Fibrose Quística e o Cancro do Pulmão são exemplo de como o microbioma atua no desenvolvimento e controlo destas patologias.

5.1. Asma

As patologias alérgicas e a asma tornaram-se um dos maiores problemas de saúde, a nível mundial, com um aumento da prevalência nos últimos 50 anos.(22) Nos dias de hoje, a asma, doença inflamatória crónica das vias respiratórias,(22) afeta mais de 300 milhões de pessoas por todo o mundo.(20)

Esta doença complexa e heterogénea é caracterizada por uma resposta imunitária desapropriada(4,22,23) que provoca uma obstrução reversível do fluxo de ar,(4,22) hiper-responsividade das vias aéreas, uma sobreprodução de muco, eosinofilia tecidual e uma remodelação intensa da parede respiratória.(22) Esta resposta desapropriada pode ser causada por um fenómeno alérgico,(4) sendo que existem diversos fenótipos como a asma alérgica e a asma não alérgica ou intrínseca.(22)

A asma alérgica atinge essencialmente crianças, sendo desencadeada por alérgenos, como os ácaros do pó doméstico, pólen e esporos fúngicos. Desenvolve-se principalmente durante os primeiros anos de vida e envolve a produção de IgE específica para os alérgenos,

com a participação da resposta imunitária das células adaptativas T *helper* 2.(22) No caso da asma intrínseca não alérgica, esta ocorre mais tardiamente, durante a vida adulta, e é independente da sensibilização alérgica. A asma intrínseca resulta da poluição aérea, de infecções bacterianas e virais crónicas ou recorrentes dos brônquios e seios nasais, apresentando maior predominância nas mulheres.(22)

A afeção asmática origina-se graças à sinergia entre fatores genéticos e ambientais,(3,20) surgindo normalmente durante o início da vida, como resposta às exposições ambientais que influenciam o microbioma respiratório.(23) Este aumento da prevalência da asma, ao longo das décadas, pode dever-se à existência de fatores ambientais, resultantes do novo estilo de vida, que promovem a doença em indivíduos geneticamente predispostos.(22)

O microbioma respiratório, formado após o nascimento, pode ajudar a prever o aparecimento tardio de asma na infância através das interações dinâmicas com o sistema imunitário em desenvolvimento.(23) Uma reduzida exposição a microrganismos durante a infância pode ser responsável por uma fraca modulação da resposta imunitária,(4,19,23) favorecendo uma expressão da via alérgica das células T *helper* 2(4) e um desenvolvimento de inflamação crónica asmática.(23) Além disso, a sensibilização no início da vida por alérgenos, infecções por vírus respiratórios e por bactérias pode alterar a composição do microbioma e aumentar o risco do desenvolvimento de asma.(22)

Já um contacto precoce com a população bacteriana comensal reduz a suscetibilidade para o aparecimento de asma, ajudando no desenvolvimento do sistema imunitário com a criação de tolerância a antigénios inócuos.(19)

A “hipótese da higiene” defende que uma melhoria da higiene pessoal, uma redução do tamanho da família e uma diminuição da carga bacteriana leva a uma redução da exposição microbiana no início da infância, promovendo as doenças atópicas.(22) Esta hipótese verifica-se nas áreas urbanas, com um aumento da incidência de alergias e asma, estudado em crianças canadianas,(22) demonstrando ainda que as crianças em risco de asma apresentam uma redução das colónias intestinais de *Lachnospira*, *Veillonella*, *Faecalibacterium* e *Rothia*.(3,22)

As condições que favorecem a replicação e a persistência de determinadas espécies bacterianas podem implicar uma perda de equilíbrio e uma disbiose do microbioma pulmonar, possivelmente resultando no desenvolvimento de asma.(20) A patogénese da asma durante a infância pode ser relacionada com o parto por cesariana, uso de antibióticos durante o período neonatal, uma dieta materna pobre em fibras, utilização de leite de fórmula e uma variedade de microrganismos na exposição ambiental.(20)

A composição do microbioma no intestino pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento da asma infantil(19) e uma suscetibilidade adicional para as alergias,(13) sendo que uma diminuição da diversidade do microbioma intestinal, com especial foco nos gêneros *Bifidobacteria*, *Akkermansia* e *Faecalibacterium*, está relacionada com a ocorrência de asma e de atopia nesse período.(3) Durante o período perinatal, a microbiota intestinal desempenha um papel importante na formação da tolerância, maturação da imunidade e risco de asma.(13)

Existe uma janela temporal de oportunidade crítica para uma educação correta do sistema imunitário pelo microbioma, durante o início da vida. Os eventos que decorrem desde cedo podem alterar a composição da microbiota ou danificar as interações da microbiota com o sistema imunitário, destruindo ou promovendo um desvio imunitário para a atopia.(22)

Viver junto de uma quinta com animais, viver com crianças mais velhas e frequentar creches está associado a uma diminuição do risco asmático, enquanto que o parto por cesariana aumenta a prevalência de asma(23) e de doenças atópicas.(22) Uma exposição materna a microrganismos presentes nas quintas durante a gravidez também está relacionada com elevados níveis de células T reguladoras e uma diminuição de secreção de citocinas pelas células T *helper* 2,(22) reduzindo a probabilidade da inflamação asmática.

Os pacientes asmáticos apresentam uma grande diversidade bacteriana no trato respiratório, comparando com amostras de não asmáticos, onde o filo *Proteobacteria* está presente em grandes quantidades nesta afeção.(4,19) Por outro lado, as bactérias pertencentes aos filios *Bacteroidetes* e *Firmicutes* são mais abundantes nos hospedeiros saudáveis.(22)

Os gêneros bacterianos dominantes nos primeiros 2 anos de vida das crianças asmáticas são a *Moraxella*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Alloiococcus*, *Haemophilus* e *Staphylococcus*, que pertencem ao filo *Firmicutes*, *Proteobacteria* e *Actinobacteria*. Uma doença no trato respiratório inferior nestas idades está associada ao aumento da colonização por *Moraxella*, *Streptococcus* e *Haemophilus* enquanto há uma redução de *Corynebacterium*, *Alloiococcus* e *Staphylococcus*.(20) Pacientes adultos com asma apresentam uma maior prevalência de organismos do filo *Proteobacteria*, como a *Haemophilus influenzae* comparando com os controlos saudáveis.(4) A composição microbiana das vias aéreas também varia tendo em conta os sintomas clínicos e o tipo de resposta imune desencadeada pelos alérgenos.(22)

Os fungos também estão presentes na expetoração de hospedeiros saudáveis e asmáticos. A *Malassezia pachydermatis*, um fungo muito associado ao desenvolvimento de dermatite atópica, está presente na expetoração de pacientes diagnosticados com asma.(22)

Percebeu-se que ao contrário da restante microbiota do trato respiratório, a microbiota nasal contém uma reduzida diversidade de espécies, com uma especial presença de *Moraxella spp.*, género associado ao aumento da prevalência de asma.(4)

Pacientes com uma asma severa e com resistência a corticosteroides são maioritariamente colonizados pelos organismos como a *Moraxella catarrhalis* ou membros pertencentes aos géneros *Haemophilus* e *Streptococcus*. Já a asma mediada pelas células T helper 17 exhibe principalmente as famílias *Pasteurellaceae*, *Enterobacteriaceae* e *Bacillaceae*, todos membros do filo *Proteobacteria*.(22) Os estudos realizados têm um pequeno número de pacientes, mas mesmo assim todos indicam que a presença de uma disbiose pulmonar em pacientes com asma pode ser influenciada pela severidade da doença e pelo uso de corticosteroides sistémicos ou inalados.(4)

A composição da microbiota asmática está ainda relacionada com níveis reduzidos de mediadores imunitários pro-inflamatórios tópicos nas vias aéreas, a interleucina I beta e o fator de necrose tumoral (TNF- α), que caracterizam uma ineficiência da resposta antibacteriana, obrigando a existir elevados níveis de monócitos e células T recrutadoras de químicos.(23) As condições que favorecem a replicação e a persistência de determinadas espécies bacterianas podem implicar uma perda de equilíbrio e uma disbiose do microbioma pulmonar, possivelmente resultando no desenvolvimento de asma.(19)

A suplementação com quatro espécies bacterianas, *Faecalibacterium*, *Lachnospira*, *Veillonella* e *Rothia*, em ratos livres de microrganismos demonstrou reduzir a prevalência da asma, reduzindo o recrutamento de neutrófilos para os pulmões e diminuindo a resposta imune das células T helper 1/ T helper 17, associadas à asma severa.(22)

5.2. Doença Pulmonar Obstrutiva Crónica

Nos dias de hoje, a DPOC é a quarta causa de morte a nível mundial. Em 2012, mais de 3 milhões de pessoas faleceram com este diagnóstico, correspondendo a cerca de 6% da totalidade das mortes mundiais.(24) Esta patologia pulmonar progressiva e crónica afeta 4 a 5% da população de todo o mundo,(16) sendo a maior causa de morbilidade crónica.(24) Muitos dos indivíduos que padecem desta afeção morrem prematuramente com a doença ou pelas suas complicações.(24)

Esta doença inflamatória crónica das vias aéreas é uma desordem heterogénea(3) caracterizada por uma resposta inflamatória prolongada, lesões no tecido pulmonar,(16) obstrução do fluxo aéreo(3,16,25) e exacerbações frequentes.(3) A DPOC apresenta-se como

um grande desafio de saúde pública que é tratável e prevenível,(24) apesar da sua arquitetura patogénica complexa.(26)

Os fatores de risco que propiciam o aparecimento e desenvolvimento da DPOC incluem o consumo de tabaco, o uso de combustíveis de biomassa em espaços fechados, a exposição ocupacional, a asma e as infeções no início de vida.(26) Estes fatores prejudicam as defesas imunes inatas levando a alterações da abundância, da composição taxonómica e da diversidade filogenética do microbioma pulmonar.(3,25) Isto cria uma resposta inflamatória desajustada, com ações incorretas das defesas pulmonares e desarranjos do microbioma, dando início a um ciclo vicioso que trará consequências.(25)

O microbioma pulmonar pode contribuir para a patogénese da DPOC através da manipulação do processo inflamatório e imunitário.(3,26) Alterações substanciais agudas do microbioma das vias aéreas, como a inclusão de novas estirpes respiratórias, geram maiores respostas inflamatórias, clinicamente conhecidas como exacerbações.(16,25)

Um estímulo inflamatório inicia a inflamação das vias aéreas,(3) com um aumento das células imunitárias CD4+ e CD8+ e dos macrófagos nas vias aéreas,(26) alterando o microambiente respiratório. As condições de crescimento são perturbadas e propiciam a desordem do microbioma pulmonar, exacerbando a inflamação das vias respiratórias. A interleucina 8 presente na expectoração tem um forte desempenho na DPOC pois promove o recrutamento de neutrófilos e regula os genes da mucina, favorecendo a produção de muco. A disbiose pulmonar também induz a produção destes mediadores associados à estrutura e diversidade do microbioma.(3)

Nas vias aéreas destes indivíduos, verifica-se uma elevada presença de bactérias, sejam elas ou não potenciais patógenos.(3,25) Com o aumento da limitação do fluxo aéreo, cria-se o meio ideal para a colonização de patógenos oportunistas, como a *Pseudomonas aeruginosa*, que agravam a obstrução.(25,26) Esta colonização relaciona-se com a severidade da resposta inflamatória, alterações radiológicas e variações patológicas da resposta imunitária, com aumento da sintomatologia diária.(3,25)

A presença de enfisema e remodelação das vias aéreas foi associada a uma diminuição da diversidade bacteriana, com um aumento dos géneros *Pseudomonas* e *Lactobacillus* e uma diminuição da *Prevotella*, que se correlacionou negativamente com uma infiltração de células T CD4+.(3) A diversidade e riqueza do microbioma dos pulmões reduz o enfisema e, conseqüentemente, a infiltração de células imunitárias.(25) Para além disso, um desequilíbrio

da razão protéase – antiprotéase nos pulmões dos pacientes com DPOC pode quebrar a componente conectiva do tecido, favorecendo o estabelecimento do enfisema.(26)

A disbiose pulmonar aparenta estar associada às exacerbações e é indicativa de dois fenótipos específicos, o bacteriano e o eosinófilo.(3) No fenótipo bacteriano, o filo *Proteobacteria* está aumentado, enquanto no fenótipo eosinófilo é observado um aumento do *Firmicutes*.(3,26) Estas dinâmicas do microbioma pulmonar podem funcionar como biomarcadores ou como alvos para a intervenção terapêutica na DPOC.(3,26) Foi demonstrada uma relação inequívoca entre a severidade da obstrução aérea e a diminuição da diversidade da flora.(5)

Em contraste com o microbioma pulmonar saudável, o microbioma de pacientes com DPOC aparenta ser mais persistente, diferindo entre os vários compartimentos pulmonares devido às profundas alterações geradas por cada microambiente pulmonar.(25) A composição do microbioma depende do local de colheita, seja ele de uma amostra da expectoração ou de fluido de uma lavagem broncoalveolar.(4)

Estudos realizados em doentes com DPOC permitiram identificar as variações que ocorrem ao nível da flora pulmonar, como o aumento da representação de *Proteobacteria*(19) e *Actinobacteria*(3,25) nas vias aéreas, acompanhada de uma redução de *Bacteroidetes*.(19) Esta expansão está associada a um aumento da destruição alveolar e aumento da infiltração das células imunitárias.(3)

Para cada inflamação das vias aéreas e disbiose respiratória parece existir um grau de severidade, sendo que a disbiose respiratória da DPOC emerge apenas quando é ultrapassado o limite do grau de severidade.(5)

Quando ocorre exacerbações nos doentes com DPOC leve e moderada, a riqueza, uniformidade e diversidade da comunidade não sofre mudanças.(25,26) Apenas se verifica alterações na composição taxonómica com um aumento de *Proteobacteria* e uma diminuição de *Actinobacteria*, *Clostridia* e *Bacteroidia*.(25) influenciando a severidade e o início das exacerbações.(17,26)

O mesmo não acontece numa DPOC avançada ou severa em que a microbiota está muito alterada. A maioria dos estudos em pacientes com DPOC severa conclui que há uma diminuição do filo *Bacteroidetes* com um privilégio do *Proteobacteria*.(5) de membros patogénicos como a *Pseudomonas spp.*, a *Haemophilus spp.*(5,25) e *Stenotrophomonas spp.* (25), e também de *Firmicutes*.(5) Alguns estudos recentes observaram a presença de fungos no trato respiratório, considerando-os como causa ou consequência da DPOC.(5)

Os gêneros bacterianos *Haemophilus* e *Moraxella* estão relacionados com a severidade da doença e a ocorrência de exacerbações. Podem também estar envolvidos na formação de biofilmes e resistência aos antibióticos.(16) A colonização por um determinado patógeno influencia a dinâmica do microbioma e o enriquecimento taxonômico está relacionado com o patógeno dominante, contribuindo para a manifestação de exacerbações.(25)

O enriquecimento da microbiota pulmonar com microrganismos provenientes da cavidade oral está associado ao aumento da inflamação nos fumadores. As alterações verificadas na microbiota oral e a falha na limpeza de microrganismos aspirados contribui para o desenvolvimento da doença, podendo explicar como é que os fumadores desenvolvem DPOC e ser útil no diagnóstico desta afeção.(18)

O tratamento desta patologia associa o uso de corticosteroides e antibióticos para melhorar a sintomatologia característica. O uso de esteroides orais aumenta a diversidade do microbioma,(4) com um enriquecimento em membros de *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* e *Firmicutes*.(25) enquanto os antibióticos reduzem a abundância e eliminam parte do microbioma pulmonar.(4,25)

O fumo do tabaco, uso de antibióticos e corticosteroides orais, fatores envolvidos nesta afeção, propiciam o desenvolvimento de uma disbiose intestinal em pacientes com DPOC. O microbioma intestinal está envolvido no aumento da permeabilidade intestinal que pode causar exacerbações severas,(16,17) devido à perda da integridade da barreira intestinal provocada por danos de hipoxia e lesão de mediadores inflamatórios.(16)

Já a presença de toxinas bacterianas, como as enterotoxinas ou LPS, contribuem para a patogénese da DPOC e a inflamação intestinal associada à microbiota pode tornar-se sistémica e exacerbar a afeção.(18)

O uso de probióticos como intervenção preventiva pode ser benéfico para os pacientes com DPOC, sendo que uma administração oral de *Lactobacillus casei* melhora a função em defeito das células periféricas *natural killer* nos homens fumadores. Já a *Bifidobacterium breve* e a *Lactobacillus rhamnosus* contribui para a diminuição da patologia pulmonar, num modelo de DPOC, reduzindo a resposta inflamatória dos macrófagos quando expostos ao fumo do tabaco *in vitro*.(18)

Uma dieta que promove a produção de SCFAs, confere características protetoras contra a inflamação induzida pela elastase e o enfisema. O fumo dos cigarros interfere na concentração de SCFA nos roedores e reduz a sua produção em modelos *in vitro*.(18)

5.3. Fibrose Quística

A próxima patologia que também está sujeita a modulação pelo microbioma pulmonar é a Fibrose Quística. A fibrose quística é uma doença genética recessiva autossómica(16,27,28) que, em média, afeta 400 pessoas em Portugal e cerca de 75 000 em todo o mundo.(29) Esta patologia monogénica é causada por mutações no gene que codifica a proteína reguladora do transporte transmembrana da fibrose quística (CFTR), dependente do equilíbrio entre as mutações existentes, a influência de genes modificadores e de outros fatores pouco caracterizados.(28)

Mutações no gene do CFTR pode levar a defeitos de codificação no canal aniónico da membrana apical nas células epiteliais,(16,27) criando um transporte deficiente de iões, depleção do líquido surfactante das vias aéreas e disfunção da *clearance* mucociliar.(27) Esta ausência ou disfunção da proteína CFTR afeta significativamente a reologia, particularmente a nível respiratório,(28) conferindo uma hiperviscosidade do muco(16,28) e obstrução das vias aéreas que promovem uma proliferação e desequilíbrio microbiano ao longo do trato respiratório. O gene do CFTR é conhecido há mais de 30 anos e por isso faz-se uma avaliação de rotina para estas mutações.(28)

Apesar desta patologia afetar diversos órgãos e sistemas, a principal causa de morbilidade e mortalidade são as infeções crónicas pulmonares(27,28) que podem surgir precocemente, criando lesões progressivas nas vias aéreas e no parênquima pulmonar. Gera-se assim um ciclo vicioso de infeção e inflamação respiratória.(27)

O trato respiratório da Fibrose Quística é colonizado por um elevado número de bactérias desde tenra idade. A comunidade bacteriana que compõe o microbioma pertence aos filos *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Fusobacteria* e *Proteobacteria*, sendo que os mais representados são o *Proteobacteria* e o *Actinobacteria*.(28)

Para além da colonização normal das vias aéreas, existe ainda colonização por bactérias associadas à infeção crónica respiratória inferior como a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, o *Burkholderia cepacia*, *Haemophilus influenzae*,(27,28) *Stenotrophomonas maltophilia* e *Achromobacter xylosoxidans*.(27) Os pulmões estão entre os órgãos mais afetados na Fibrose Quística, com infeções pulmonares graves causadas pela *Pseudomonas aeruginosa*.(16,28) Apesar dos inúmeros avanços no tratamento farmacológico, os pacientes com fibrose quística ainda morrem de infeção pulmonar.(28)

Os vírus respiratórios comuns são também encontrados em 60% dos indivíduos com este diagnóstico e são uma das maiores causas de morbilidade comparativamente aos indivíduos

saudáveis.(28) Já as espécies fúngicas podem também interagir com o restante microbioma, desempenhando um papel importante como cofator da resposta inflamatória e imune.(28)

Nesta patologia, os principais microbiomas a serem afetados são o pulmonar e o intestinal.(28) Estes dois microbiomas são bastante diferentes dos hospedeiros saudáveis, sendo possível efetuar associação entre a progressão da doença e as alterações verificadas.(17)

Enquanto os sujeitos saudáveis apresentam um microbioma contínuo ao longo de todo o trato respiratório, amostras dos pacientes com Fibrose Quística apresentam grandes diferenças nas várias colheitas realizadas pelo mesmo. Há medida que a doença avança, as diferenças entre os vários microbiomas que compõe o aparelho respiratório acentuam-se.(28)

A diversidade do microbioma é um dos maiores marcadores preditivos da progressão da doença(4,27,28) relacionando-se com a idade do paciente,(27) o risco de um posterior transplante pulmonar e morte.(28) Este parâmetro mantém-se estável ao longo do tempo, em pacientes com uma boa função pulmonar e diminuiu nos pacientes com uma função prejudicada.(28) Ao contrário dos pacientes jovens, os pacientes mais velhos apresentam uma menor diversidade pulmonar com dois patógenos detetáveis, *Pseudomonas aeruginosa*(4,28) e *Stenotrophomonas maltophilia*.(4) A maior parte dos pacientes com Fibrose Quística apresentam um crescimento seletivo de patógenos respiratórios na expetoração, tanto durante a estabilidade clínica como nas exacerbações.(5)

A diversidade na expetoração também diminui com a idade e a severidade da doença, apesar da perda de diversidade estar intimamente relacionada com a exposição cumulativa de antibióticos.(5) A perda de diversidade é acompanhada por um aumento da abundância e grande semelhança filogenética entre as várias colónias,(4,27) que poderá ser um resultado espectável tendo em conta as alterações ambientais ocorridas.(27)

Os pacientes com fibrose quística apresentam inúmeros episódios de exacerbações pulmonares causadas pelas variações do microbioma. Uma alteração do perfil do microbioma que permita a colonização de bactérias anaeróbias pode melhorar os biomarcadores das exacerbações pulmonares.(28) Estes géneros são essencialmente a *Prevotella*, *Porphyromonas* e *Veillonella* que estão associados a uma melhoria dos *outcomes* clínicos.(27) Apesar da *clearance* mucociliar ser deficiente na Fibrose Quística e dificultar a erradicação de patógenos bacterianos, pode ser possível mitigar efeitos dos patógenos residentes através da promoção do crescimento de microrganismos que possibilitem uma melhoria clínica.(27)

Uma composição do microbioma mais conservadora é criada graças ao aumento da pressão seletiva que agrava a função pulmonar, podendo ter resultado de um aumento da

inflamação e intensificação da terapia com antibióticos para tratar a infecção crônica e as recorrentes exacerbações.(27) Os antibióticos de longa ação afetam a maturação e evolução do microbioma.(28) Durante as exacerbações, a antibioterapia modula o microbioma contribuindo para a diminuição da riqueza e diversidade.(27,28) Por isso, a perda de diversidade do microbioma intestinal causada pela antibioterapia pode exacerbar a doença pulmonar nos pacientes com fibrose quística.(28)

O microambiente intestinal predispõe as crianças com Fibrose Quística a uma disbiose intestinal e respiratória, possivelmente desde o nascimento.(28) Um estudo realizado percebeu que, nesta faixa etária, a microbiota intestinal já se encontra prejudicada e com uma redução da sua diversidade, associada a exacerbações das vias aéreas. Ao longo do primeiro ano de vida da criança, foi detetada alterações no microbioma intestinal com uma redução de *Bacteroides* e *Roseburia* e um aumento significativo de *Veillonella*.(16)

O eixo intestino-pulmão também sofre perturbações na fibrose quística, ao ocorrer uma redução da abundância da produção bacteriana de SCFAs, que em conjunto com a disbiose intestinal relaciona-se com os defeitos da homeostasia imunitária pulmonar.(28) Pacientes com fibrose quística e inflamação intestinal bem documentada exibem uma grande abundância de *Streptococcus* no intestino, reforçando o envolvimento do eixo intestino-pulmão na inflamação intestinal.(17)

A fortificação da dieta com determinados ácidos gordos ou hidratos de carbono é uma hipótese interessante a considerar no tratamento desta afeção, pois possibilita a regulação da produção de SCFAs, que têm um impacto positivo na função pulmonar dos pacientes com fibrose quística.(28) A administração de probióticos entéricos a pacientes aparenta diminuir a frequência de exacerbações pulmonares,(5,17) mas ainda não se entende qual o seu papel junto do microbioma respiratório.(5)

Já uma suplementação com vitamina D é essencial para o desenvolvimento da microbiota intestinal saudável, que pode também beneficiar pacientes que apresentam uma má absorção e disbiose intestinal.(28)

A análise do microbioma pulmonar nos doentes com este diagnóstico pode revelar-se útil para os clínicos no momento da decisão terapêutica, nomeadamente na escolha de antibióticos a utilizar perante uma infecção complexa.(28)

5.4. Cancro do Pulmão

Outra das patologias que mais expressão tem nos pulmões é o cancro. O cancro do pulmão é um dos tipos de cancro mais comuns no mundo, liderando a taxa de mortalidade entre os pacientes com este diagnóstico.(30,31) A incidência deste tipo de cancro tem vindo a aumentar nos países em desenvolvimento.(31)

O cancro do pulmão divide-se, tendo em conta a sua histologia, em carcinoma das células pequenas e carcinoma das células não pequenas. O carcinoma das células não pequenas compreende ainda o carcinoma escamoso, o adenocarcinoma e o carcinoma das células grandes.(31)

O seu desenvolvimento pode ser promovido por fatores fisiológicos e ambientais como a dieta, o fumo, o consumo de álcool, a poluição aérea,(31) os químicos carcinogénicos, a inflamação crónica, as infeções virais e bacterianas(30) e as doenças periodontais(30,31) que alteram a composição do microbioma nos vários locais anatómicos. (31)

O desenvolvimento do cancro do pulmão está ainda ligado às respostas inflamatórias formadas na presença de patologias, como a DPOC(32), ou de infeções, como a tuberculose(3,32) e a pneumonia, que aumentam o risco desta progressão.(3)

A relação entre o microbioma e o cancro do pulmão é a principal causa da morbilidade e mortalidade em todo o mundo.(32) A evidência comprova que as alterações globais do microbioma desempenham um papel essencial no desenvolvimento deste cancro.(30,32)

A diversidade do microbioma pulmonar é um indicador crucial para a transformação maligna.(30) Uma disbiose da microbiota pulmonar pode promover o desenvolvimento do cancro pulmonar através da libertação de metabolitos bacterianos promotores do cancro e pela indução das vias inflamatórias do hospedeiro.(31) A colonização por *Mycobacterium tuberculosis* pode ser explicar a infeção persistente criada nos pulmões que induz a produção de TNF- α e que pode causar uma inflamação e fibrose pulmonar. Estes pacientes encontram-se imunodeprimidos após a quimioterapia, o que aumenta o risco desta infeção.(32)

Os pacientes com cancro do pulmão apresentam alterações da abundância relativa em múltiplos géneros.(31) Um estudo realizado com os fluidos da lavagem broncoalveolar de 28 pacientes concluiu que os filos *Bacteroidetes*, *Firmicutes*(31,32) e *Proteobacteria* são os mais comuns, com a predominância dos géneros *Neisseria*(31), *Prevotella* e *Streptococcus*.(31,32)

Os microrganismos patógenos e oportunistas, como *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*(30,32) e os géneros *Pneumococcus*, *Legionella* e *Moraxella*, são

capazes de provocar e exacerbar a inflamação nos tecidos pulmonares.(30) Em alguns destes casos, os microrganismos estão dependentes da histologia do tumor observado. Os géneros *Acidovorax*, *Klebsiella*, *Rhodofera*, *Comamonas* e *Polaromonas* encontram-se exclusivamente no carcinoma das pequenas células.(30) Já o género *Thermus*(32) e *Pseudomonas* estão relacionados com o adenocarcinoma.(30)

O estudo de amostras orais e de expetoração mostrou que estas estão enriquecidas pelos géneros *Granulicatella*, *Abiotrophia* e *Streptococcus* em pacientes com cancro do pulmão.(31,32) A *Granulicatella adiacens* associa-se a outros patógenos oportunistas como o *Enterococcus spp.*, *Streptococcus intermedius*, *Escherichia coli*, *Streptococcus viridans*, *Acinetobacter junii* e *Streptococcus spp.* no desenvolvimento do tumor pulmonar. Esta ligação só se verifica em doentes com cancro do pulmão.(30,31)

Os indivíduos fumadores com este diagnóstico têm um maior rácio entre *Firmicutes* e *Bacteroidetes* que os não fumadores.(31,32) O género *Thermus* é mais abundante no tecido de paciente num estágio mais avançado e a *Legionella* está elevada em pacientes com metástases.(31)

Outro estudo demonstrou que uma exposição combinada de fumo e colonização de *Haemophilus influenzae* não típável promove o crescimento metastático e a proliferação do cancro pulmonar como resultado da indução da translocação de fatores bacterianos pelo fumo.(32)

O microbioma pulmonar no cancro pode ser considerado um forte indicador preventivo e de diagnóstico(30) já que apresenta diferenças do microbioma de um indivíduo saudável.(3) Os géneros *Veillonella* e *Megasphaera* podem ser potenciais biomarcadores cancerígenos nos pulmões(30,31), pois estão ambos aumentados nestes indivíduos.(3) Outros géneros que funcionam como biomarcadores são o *Capnocytophaga*, o *Selenomonas*, o *Veillonella* e a *Neisseria* pois estão associados tanto ao carcinoma das células pequenas como ao adenocarcinoma.(30,32) Adicionalmente, a combinação de dois biomarcadores bacterianos, a *Capnocytophaga* e *Veillonella*, mostraram uma boa performance na predição do carcinoma das células escamosas e adenocarcinoma, podendo contribuir para o *screening* do cancro do pulmão.(32) A expetoração espontânea pode ser uma fonte viável de biomarcadores bacterianos para perceber o estado e o estágio do cancro pulmonar.(31)

A identificação de ligações entre a terapia com antibióticos e o estado imunitário pode alterar drasticamente a abordagem do uso de antibióticos dos pacientes com cancro. Num modelo murino de cancro do pulmão de Lewis, foi estabelecido que uma terapia com

ampicilina, vancomicina, sulfato de neomicina e metronidazol intensifica a suscetibilidade para a progressão do tumor.(30) A utilização de antibióticos como a penicilina, a cefalosporina e macrólidos também aumenta o risco de desenvolvimento de cancro do pulmão.(31) Ainda não existe uma conclusão acertada na literatura sobre o real valor dos antibióticos no cancro do pulmão, exigindo mais estudos.(30)

É colocado como hipótese que o equilíbrio do microbioma comensal contribui para uma resposta anti-tumoral e que um co-tratamento com probióticos pode facilitar a inibição do crescimento e os efeitos de apoptose da cisplatina.(30) Os microrganismos benéficos mais estudados no contexto da doença pulmonar são o *Lactobacillus* e o *Bifidobacterium* que demonstraram proteger os ratos contra a infecção pulmonar pelo aumento da produção de anticorpos, aumento da atividade das células *natural killer* e da produção de interferão gama e da interleucina 10.(31)

A administração oral de *Lactobacillus acidophilus* nos modelos de ratos com cancro pulmonar mostrou reduzir o tamanho do tumor e aumentar a taxa de sobrevivência após o tratamento com cisplatina. Já a utilização de *Enterococcus hirae* e *Barnesiella intestinihominis* em conjunto com a quimioterapia pode melhorar significativamente a eficácia nos pacientes com cancro do pulmão avançado.(31)

6. Influência do estilo de vida no Microbioma Pulmonar

O estilo de vida que cada indivíduo pratica desde o nascimento manipula a formação do microbioma pulmonar e confere alterações na nossa imunidade que nos pode tornar mais suscetíveis para determinadas patologias. A Dieta e o Tabagismo são dois dos fatores que mais influenciam a formação e modulação do microbioma do trato respiratório.

6.1. Influência da dieta

A assimilação dos nutrientes provenientes da dieta pelo microbioma intestinal promove a produção de metabolitos que têm um papel crucial na saúde humana. Uma alimentação rica em fibras aumenta os níveis de SCFAs influenciando significativamente a imunidade sistémica, tanto do trato gastrointestinal como do sistema respiratório.(33) A presença de SCFA na circulação sanguínea promove a proteção contra a inflamação alérgica nos pulmões.(33)

As fibras estão presentes em alimentos como os cereais, vegetais, frutas e nozes, sendo que quantidade e composição das fibras varia nos diferentes alimentos.(34) As dietas ricas em

fibras estão associadas a uma melhoria da função pulmonar e um menor risco de afeções pulmonares.(33)

A influência da dieta começa desde cedo com a alimentação à base de leite materno. O leite materno modela as comunidades microbianas intestinais infantis e promove uma homeostasia intestinal pois é uma das fontes de microrganismos, providência anticorpos maternos, como a imunoglobulina A, e fornece nutrientes capazes de alterar a composição da flora microbiana no primeiro ano de vida.(22) Comparando com crianças alimentadas à base de leite de fórmula, a amamentação é associada a uma redução dos riscos de desenvolver asma, principalmente nos bebês com histórico familiar desta patologia.(22)

Vários estudos com modelos animais para a inflamação alérgica das vias aéreas demonstraram que a inclusão de fibras na dieta aumentou os níveis de SCFAs, alterando a composição da flora intestinal(22) e protegendo contra a asma induzida pelos ácaros do pó doméstico.(13) Já um regime pobre em fibras reduziu os níveis de SCFA e aumentou a frequência da asma. Estas correlações foram também reportadas em humanos.(13)

Nutrientes específicos são capazes de alterar expressões genéticas durante o desenvolvimento precoce, o que pode implicar uma potencial alteração epigenética hereditária na predisposição da asma.(19)

Já no caso da DPOC, um estudo realizado percebeu que uma dieta à base do consumo de fruta, vegetais, óleo de peixe e cereais integrais protege o paciente com esta patologia do dano da função pulmonar, particularmente nos homens fumadores. O óleo de peixe é apontado como um dos grandes responsáveis pelos benefícios verificados.(16) Outro estudo de coorte prospetivo permitiu inferir que o risco de um novo diagnóstico de DPOC reduz um terço nos participantes que apresentam esta dieta saudável.(16)

A disbiose intestinal verificada na Fibrose Quística está associada a alterações do metabolismo lipídico, incluindo uma redução da capacidade para a biossíntese de ácidos gordos e um aumento da capacidade de degradação de compostos anti-inflamatórios como os SCFAs.(16) O enriquecimento de fibras na dieta pode complementar a redução destes compostos e reduzir a inflamação.

Os efeitos benéficos das fibras na função dos pulmões são clinicamente mais significantes no caso dos fumadores, reforçando o potencial da utilização das modificações da dieta para combater as desordens respiratórias.(16) O aumento do consumo de fibras dietéticas foi sugerido como intervenção farmacêutica a realizar na DPOC de modo a reduzir

a inflamação aérea crónica através da promoção de um microbioma saudável e com o aumento da produção de SCFA.(16)

Os probióticos demonstraram efeitos promissores na melhoria das condições inflamatórias, bem como na regulação da imunidade inata utilizando os TLRs e nas vias sinalizadoras correspondentes. A melhoria da função barreira no intestino permite prevenir a saída de antigénios como os LPS. Os benefícios dos probióticos torna-os potenciais candidatos no tratamento das doenças inflamatórias como a doença do intestino irritável, alergia, DPOC e asma.(33)

6.2. Consequências do Tabagismo

O Tabagismo é nos dias de hoje uma das principais causas de morbilidade e mortalidade por todo o mundo.(35) O consumo de tabaco e a exposição ao fumo estão associados ao desenvolvimento de inúmeras patologias como o cancro do pulmão, asma, DPOC(35,36), fibrose quística(36), perda de audição, doença cardiovascular e doença periodontal.(35)

O fumo do cigarro contém inúmeros componentes químicos que contactam com a mucosa respiratória e contribuem para uma inflamação crónica(3), favorecendo as infeções virais e bacterianas no trato respiratório.(36)

Alguns fumadores apresentam um microbioma menos diverso que os não fumadores com uma função pulmonar normal,(35,37) o que indica que as alterações do microbioma pulmonar podem ocorrer em sujeitos que não apresentam evidência espirométrica de doença.(37) O fumo também promove a redução da diversidade microbiana da mucosa bucal.(35)

Apesar de se verificar uma redução da diversidade, outro grupo de fumadores apresentou um aumento tanto no risco de inflamação como na diversidade e abundância da microbiota dos pulmões.(35) Existem indícios que comprovam que a disbiose nos fumadores com um aumento da prevalência do filo *Firmicutes* e da espécie *Neisseria spp.* associadas à relativa diminuição de abundância do *Proteobacteria*.(18)

Um estudo realizado concluiu que o fumo do tabaco influencia o microbioma através das alterações na homeostasia imunitária, formação de biofilme, tensão de oxigénio ou por contacto direto com outros microrganismos que podem estar envolvidos na ocorrência de inúmeras doenças.(36)

O consumo de tabaco, passivo ou ativo, é responsável por causar ataques de asma, promover o rápido declínio da função pulmonar em pacientes asmáticos e também de reduzir

os efeitos terapêuticos dos glucocorticoides, tornando mais difícil controlar a condição asmática.(36)

Já na DPOC, fumar é uma das principais causas ou fatores de iniciação responsável pelo desenvolvimento desta patologia pois favorece a alteração da dinâmica das interações entre microrganismos e hospedeiro. O fumo do tabaco nos pacientes com DPOC reduz a função pulmonar e aumenta as hospitalizações relacionadas com o comprometimento pulmonar. No caso da fibrose quística, alguns estudos focam-se na análise das variações genéticas, no contexto do fumo do tabaco, e na deteção de associações entre a exposição ao fumo e a disfunção do gene CFTR.(36)

7. Conclusão

O Microbioma Pulmonar desempenha um forte papel na saúde de todos os indivíduos, e como tal, deve ser aprofundado o conhecimento de modo a permitir utilizá-lo como uma alternativa terapêutica ou de facilitar o diagnóstico.

Desde muito cedo que entramos em contacto com microrganismos capazes de causar doença, mas também de educar e fortalecer o nosso sistema imunitário, permitindo uma resposta correta e menos exacerbada. Para além disso, o aprofundamento do conhecimento sobre os vários microbiomas, especialmente o pulmonar, pode facilitar o diagnóstico precoce de patologias e auxiliar no momento de escolha da melhor terapêutica.

A utilização de probióticos e o controlo da dieta alimentar rica em fibras são duas das estratégias que podem vir a ser utilizadas para o controlo do Microbioma Pulmonar. O conhecimento do eixo pulmão-intestino permite perceber o modo como a comunicação entre estes dois órgãos funciona e utilizá-la a nosso favor para uma correta estimulação do sistema imunitário.

A utilização de várias estratégias para o controlo de patologias respiratórias poderá vir a ser uma aposta terapêutica não farmacológica no futuro, onde o farmacêutico pode assumir um papel interventivo e contribuir para o correto aconselhamento. As medidas não farmacológicas como a alteração da alimentação para uma dieta rica em fibras, aumentando os níveis de SCFAs, ou mesmo o aconselhamento de um probiótico pode impactar na vida de um utente que convive com estas patologias respiratórias crónicas. Como tal, devemos estar predispostos a estas novas opções terapêuticas que ainda necessitam um maior estudo e compreensão.

8. Referências Bibliográficas

- (1) MORENS, David M.; FOLKERS, G.K.; FAUCI, A. S. - **Emerging infections in historical context**. *Nature*, 430 (2004), 242-249.
- (2) HAKANSSON, A.P.; ORIHUELA, C.J.; BOGAERT, D. - **Bacterial-Host Interactions: Physiology and Pathophysiology of Respiratory Infection**. *Physiol Rev*, 98 (2018), 781-811.
- (3) FABRIZZI, A.; AMEDEI, A.; LAVORINI, F.; RENDA, T.; FONTANA, G. - **The lung microbiome: clinical and therapeutic implications**. *Internal and Emergency Medicine*. Springer International Publishing, 14 (2019), 1-10.
- (4) COSTA, A.N.; COSTA, F.M.; CAMPOS, S.V.; SALLES, R.K.; ATHANAZIO, R.A. - **The pulmonary microbiome: Challenges of a new paradigm**. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 44 (2018), 454-432.
- (5) DICKSON, R.P.; ERB-DOWNWARD, J.R.; MARTINEZ, F.J.; HUFFNAGLE, G.B. - **The Microbiome and the Respiratory Tract**. *Annu Rev Physiol*, 78 (2016), 481-504.
- (6) THE HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM - **A framework for human microbiome research**. *Nature*, 486(2012), 215-221.
- (7) PETERSON, J.; GARGES, S.; GIOVANNI, M.; MCINNES, P.; WANG, L.; SCHLOSS, J.A. et al - **The NIH Human Microbiome Project**. *Genome Research*, 19 (2009), 2317-2323.
- (8) THE HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM - **Structure, function and diversity of the healthy human microbiome**. *Nature*, 486 (2012), 207-214.
- (9) WYPYCH, T.P; WICKRAMASINGHE, L.C.; MARSLAND, B.J. - **The influence of the microbiome on respiratory health**. *Nature Immunology*, 20 (2019), 1279-1290.
- (10) BERG, G.; RYBAKOVA, D; FISCHER, D.; CERNAVA, T.; VERGES M-C.C.; CHARLES, T.; CHEN, X.; COCOLIN, L.; EVERSOLE, K.; CORRAL, G.H.; KAZOU, M.; KINKEL, L.; LANGE, L.; LIMA, N.; LOY, A.; MACKLIN, J.A; MAGUIN, E.; MAUCLINE, T.; MACCLURE, R.; MITTER, B.; RYAN, M.; SARAND, I.; SMIDT, H.; SCHELKLE, B.; ROUME, H.; KIRAN, G.S.; SELVIN, J.; SOUZA, R.S.C.; VAN OVERBEEK, L.; SINGH, B.K.; WAGNER, M.; WALSH, M.; SESSITSCH, A.; SCHLOTTER, M. - **Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges**. *BMC*, 8 (2020), 1-22.
- (11) DICKSON, R.P. - **The microbiome and critical illness**. *Lancet Respiratory*

- Medicine, 4 (2016), 59-72.
- (12) LAL, C.V.; TRAVERS, C.; AGHAI, Z.H.; EIPERS, P.; JILING, T.; HALLORAN, B.; CARLO, W.A.; KEELEY, J.; REZONZEW, G.; KUMAR, R.; MORROW, C.; BHANDARI, V.; AMBALAVAN, N. - **The Airway Microbiome at Birth**. Nature. Scientific Reports, 6 (2016),1-13.
- (13) MATHIEU, E.; ESCRIBANO-VASQUEZ, U.; DESCAMPS, D.; CHERBUY, C.; LANGELLA, P.; RIFFAULT, S.; REMOT, A.; THOMAS, M. - **Paradigms of Lung microbiota functions in health and disease, particularly, in asthma**. Frontiers in Physiology, 9 (2018), 1–11.
- (14) RENZ, H.; SKEVAKI, C. - **Early life microbial exposures and allergy risks: opportunities for prevention**. Nature Reviews Immunology, 3 (2021), 177-191
- (15) BUSH, A. - **Lung development and aging**. Ann American Thoracic Society, 13 (2016), S438–S446.
- (16) SANTO, C.E.; CASEIRO, C.; MARTINS, M.J.; MONTEIRO, R.; BRANDAO, I. - **Gut Microbiota, in the Halfway between Nutrition and Lung Function**. Nutrients, 13,1716 (2021), 1-18.
- (17) ENAUD, R.; PREVEL, R.; CIARLO, E.; BEAUFILS, F.; WIEERS, G.; GUERY, B.; DELHAES, L. - **The Gut-Lung Axis in Health and Respiratory Diseases: A Place for Inter-Organ and Inter-Kingdom Crosstalks**. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 10 (2020), 1–11.
- (18) BUDDEN, K.F.; GELLATLY, S.L.; WOOD, D.L.A.; COOPER, M.A.; MORRISON, M.; HUGENHOLTZ, P.; HANSBRO, P.M. - **Emerging pathogenic links between microbiota and the gut-lung axis**. Nature Reviews Microbiology, 15 (2016), 55–63.
- (19) HE, Y.; WEN, Q.; YAO, F.; XU, D.; HUANG, Y.; WANG, J. - **Gut–lung axis: The microbial contributions and clinical implications**. Critical Reviews in Microbiology, 43 (2017), 81–95.
- (20) HUGFNAGL, K.; PALI-SCHOLL, I.; ROTH-WALTER, F.; JENSEN-JAROLIM, E. - **Dysbiosis of the gut and lung microbiome has a role in asthma**. Seminars in Immunopathology, 42 (2020), 75-93.
- (21) CAESAR, R.; TREMAROLI, V.; KOVATCHEVA-DATCHARY, P.; CANI, P.D.; BACKHED, F. - **Crosstalk between Gut Microbiota and Dietary Lipids Aggravates WAT Inflammation through TLR Signaling**. Cell Metabolism, 22,

1-22.

- (22) RIVAS, M.N.; CROTHER, T.R.; ARDITI, M. - **The microbiome in Asthma**. *Curr Opin Pediatr*, 28 (2016), 764-771.
- (23) THORSEN, J.; RASMUSSEN, M.A.; WAAGE, J.; MORTENSEN, M.; BREJNROD, A.; BONNELYKKE, K.; CHAWES, B.L; BRIX, S.; SORENSEN, S.J.; STOKHOLM, J.; BISGAARD, H. - **Infant airway microbiota and topical immune perturbations in the origins of childhood asthma**. *Nature Communications*, 10 (2019), 1-8.
- (24) GLOBAL INITIATIVE FOR CHRONIC OBSTRUCTIVE LUNG DISEASE. - **GOLD Report 2020**. Global Initiative Chronic Obstructive Lung Disease, 2020. [Acedido a 15 de agosto de 2021]. Disponível na Internet: https://goldcopd.org/wp-content/uploads/2019/12/GOLD-2020-FINAL-ver1.2-03Dec19_WMV.pdf
- (25) MAMMEN, M.J.; SETHI, S. - **COPD and the microbiome**. *Official Journal of the Asian Pacific Society of Respiriology*, 21 (2016), 590-599.
- (26) WANG, L.; HAO, K.; YANG, T.; WANG, C. - **Role of the lung microbiome in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease**. *Chinese Medical Journal*, 130 (2017), 2107–2111.
- (27) CUTHBERTSON, L.; WALKER, A.W.; OLIVER, A.E.; ROGERS, G.B.; RIVETT, D.W.; HAMPTON, T.H.; ASHARE, A.; ELBORN, J.S; SOYZA, A.D.; CARROLL, M.P; HOFFMAN, L.R.; CANYON, C.; MOSKOWITZ, S.M.; O'TOOLE, G.A.; PARKJILL, J.; PLANET, P.J.; TENEBACK, C.C.; TUNNEY, C.C.; ZUCKERMAN, J.B.; BRUCE, K.D.; VAN DER GAST, C.J. - **Lung function and microbiota diversity in cystic fibrosis**. *BMC. Microbiome*, 8 (2020), 1-13.
- (28) FRANÇOICE, A.; HERY-ARNAUD, G. - **The microbiome in cystic fibrosis pulmonary disease**. *Genes (Basel)*, 11 (2020), 1-17.
- (29) PORTUGAL, Associação Nacional de Fibrose Quística - **O que é a Fibrose Quística?** [Acedido a 20 de agosto de 2021]. Disponível na Internet: <http://www.anfq.pt/o-que-e-a-fibrose-quistica/>
- (30) KOVALEVA, O.V.; ROMASHIN, D.; ZBOROVSKAYA, I.B.; DAVYDOV, M.M.; SHOGENOV, M.S.; GRATCHEV, A. - **Human lung microbiome on the way to cancer**. *Journal of Immunology Research*, 2019 (2019), 1-6.
- (31) XU, N.; WANG, L.; LI, C.; DING, C.; LI, C.; FAN, W.; CHENG, C; GU, B. - **Microbiota dysbiosis in lung cancer: Evidence of association and potential mechanisms**.

Translation Lung Cancer Research, 9 (2020), 1554–1568.

- (32) MAO, Q.; JIANG, F.; YIN, R.; WANG, J.; XIA, W.; DONG, G.; MA, W.; YANG, Y.; XU, L.; HU, J. - **Interplay between the lung microbiome and lung cancer.** Elsevier. Cancer Letters, 415 (2018), 40-48.
- (33) ANAND, S.; MANDE, S.S. - **Diet, microbiota and gut-lung connection.** Frontiers in Microbiology, 9 (2018), 1-12.
- (34) DHINGRA, D.; MICHAEL, M.; RAJPUT, H.; PATIL, R.T. - **Dietary fibre in foods: A review.** Springer. Journal Food Science Technology, 49(2012), 255–266.
- (35) ZHANG, R.; CHEN, L.; CAO, L.; LI, K.J.; HUANG, Y.; LUAN, X.Q.; LI, G. - **Effects of smoking on the lower respiratory tract microbiome in mice.** BMC. Respiratory Research, 19 (2018), 1-15.
- (36) HUANG, C.; SHI, G. - **Smoking and microbiome in oral, airway, gut and some systemic diseases.** BMC. Journal Translational Medicine, 17 (2019), 1-15.
- (37) ERB-DOWNWARD, J.R.; THOMPSON, D.L.; HAN, M.K.; FREEMAN, C.M.; MCCLOSKEY, L.; SCHMIDT, L.A.; YOUNG, V.B.; TOEWS, G.B.; CURTIS, J.L.; SUNDARAM, B.; MARTINEZ, F.J.; HUFFNAGLE, G.B. - **Analysis of the lung microbiome in the «healthy» smoker and in COPD.** PLoS One, 6 (2011), 1-12.