



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Vera de Jesus Gueirez Cordeiro

**Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Epigenetic – Brain – Gut Microbiota Interactions in Irritable Bowel Syndrome: Novel Concepts in the Pathophysiology and Emerging Therapeutic Opportunities”, referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Sandra Almeida, da Dra. Isabel Folhas e do Professor Doutor João António Nave Laranjinha, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.**

Setembro de 2022



UNIVERSIDADE D  
COIMBRA

Vera de Jesus Gueirez Cordeiro

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Epigenetic – Brain – Gut Microbiota Interactions in Irritable Bowel Syndrome: Novel Concepts in the Pathophysiology and Emerging Therapeutic Opportunities”, referente à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, respetivamente, da Dra. Sandra Almeida, da Dra. Isabel Folhas e do Professor Doutor João António Nave Laranjinha, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2022



Eu, Vera de Jesus Gueirez Cordeiro, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2017245939, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Epigenetic – Brain – Gut Microbiota Interactions in Irritable Bowel Syndrome: Novel Concepts in the Pathophysiology and Emerging Therapeutic Opportunities“ apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular 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, 08 de Setembro de 2022

---

(Vera de Jesus Gueirez Cordeiro)



## **Agradecimentos**

*Por Coimbra e por todos os momentos que vivi nesta cidade da eterna Saudade.*

*Aos amigos da faculdade pelos bons momentos e memórias que levarei em memória.*

*À família de praxe. À Fati, a minha incrível madrinha por toda a atenção e carinho. Afilhadas, Ana e Joana por me terem permitido vivenciar as tradições desta cidade com a maior emoção. Aos netos e restantes membros da família, que continue em crescimento.*

*À minha tão querida Hawaii Team, família de Erasmus, pelo vivenciar de uma forma de pensar e de estar na vida que me mudou para sempre e por todos os momentos especiais que eternamente recordarei com a maior comoção, porque la vida es un Carnaval y hay que vivirla.*

*À Mariana, por ter sido mais do que uma orientadora, formadora e mentora, por todo o tempo despendido, pelos incentivos intermináveis, pela adaptação, pela empatia e pelo constante apoio.*

*Aos colegas do Laboratório das Dissoluções Mariazinha, Daniel e Margô, aos do Apoio ao Galénico e restante equipa da Bluepharma, um agradecimento gigante por todo o acolhimento e sentido de equipa transmitido.*

*À equipa da Farmácia Isabel Folhas pelos ensinamentos que sempre levarei no meu futuro pessoal e profissional.*

*Ao Professor Doutor João Laranjinha pela compreensão e auxílio na escrita desta Monografia.*

*Aos pais e irmã pela preocupação e pelo incentivo em todas as fases destes últimos anos de Metamorfose.*

**Um Obrigada não bastaria.**

*“E qualquer medida  
que tomarmos para com  
o outro será tomada  
para conosco”*

## ÍNDICE

### RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

<b>Lista de Abreviaturas .....</b>	<b>13</b>
<b>1. Introdução .....</b>	<b>15</b>
<b>2. A Bluepharma .....</b>	<b>15</b>
<b>3. Análise SWOT .....</b>	<b>16</b>
<b>3.1. Pontos Fortes (<i>Strenghts</i>).....</b>	<b>16</b>
<b>3.1.1. Organização do Estágio e Atribuição de Mentores .....</b>	<b>16</b>
<b>3.1.2. Condições e Ambiente de Trabalho.....</b>	<b>17</b>
<b>3.1.3. Formação Interna Contínua.....</b>	<b>18</b>
<b>3.1.4. Autonomia no Desempenho de Tarefas .....</b>	<b>19</b>
<b>3.2. Pontos Fracos (<i>Weaknesses</i>) .....</b>	<b>19</b>
<b>3.2.1. Duração do Estágio.....</b>	<b>19</b>
<b>3.3. Oportunidades (<i>Opportunities</i>) .....</b>	<b>20</b>
<b>3.3.1. Contacto com Documentos Oficiais e Ferramentas de Trabalho..</b>	<b>20</b>
<b>3.3.2. Aquisição de Conhecimentos sobre Métodos Analíticos e Acompanhamento de Processos .....</b>	<b>20</b>
<b>3.4. Ameaças (<i>Threats</i>).....</b>	<b>21</b>
<b>3.4.1. Medidas de Contingência Aliadas à COVID-19 .....</b>	<b>21</b>
<b>3.4.2. Plano de Estudos com Abrangência Limitada da IF .....</b>	<b>22</b>
<b>4. Conclusões Finais.....</b>	<b>22</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>23</b>



## RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA

Lista de Abreviaturas.....	27
1. Introdução.....	29
2. A Farmácia Isabel Folhas.....	30
3. Análise SWOT.....	30
3.1.1. Equipa Técnica e Proximidade ao Utente.....	31
3.1.2. Organização e Rotação de Funções entre Colegas de Equipa.....	31
3.1.4. Gestão das Reservas.....	32
3.1.5. Dermocosmética e Aconselhamento.....	32
3.1.6. Administração de Vacinas e Medicamentos Injetáveis.....	33
3.2. Pontos Fracos ( <i>Weaknesses</i> ).....	34
3.2.1. Concomitância de Sistemas de Atendimento.....	34
3.2.2. Número de Funcionários.....	34
3.2.3. Medição de Parâmetros Bioquímicos.....	35
3.2.4. Plano de Estudos de MICF.....	35
3.3. Oportunidades ( <i>Opportunities</i> ).....	37
3.3.1. Dispensa de Medicação Hospitalar.....	37
3.3.2. Medicamentos Manipulados.....	37
3.3.3. Cartão Saúde e Troca por Produtos.....	38
3.3.4. Formação Complementar Contínua.....	38
3.3.5. Consultas de Nutrição e Podologia.....	39
3.4. Ameaças ( <i>Threats</i> ).....	40
3.4.1. Desmaterialização das receitas Médico-Veterinárias.....	40
3.4.2. Medicamentos Esgotados no Mercado.....	40
3.4.3. Locais de Venda Alternativos de MNSRM.....	41
4. Conclusões Finais.....	42
ANEXOS.....	43
CASOS CLÍNICOS.....	56
Referências Bibliográficas.....	60

## MONOGRAFIA

Abbreviation List .....	65
<b>RESUMO</b> .....	<b>67</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>68</b>
1. Introduction.....	69
2. Understanding IBS.....	69
3. What is known about IBS Pathophysiology? .....	71
3.1 Brain-Gut Axis: Disease Influencers.....	72
3.2 Gut Microbiota: a Human Ecosystem.....	74
3.3 Immune Activation and Intestinal Inflammation: Silent Enemies ....	78
3.4. From Genetic to Epigenetics: the Science of Unexpected Change.....	80
4. Managing IBS.....	87
a. Patient Education .....	88
b. Lifestyle Changes.....	88
c. Psychological Factors .....	93
d. Pharmacotherapy approaches .....	95
5. Potential Future Challenges and Clinical Translation .....	99
i Genetic and Epigenetic Therapy Advances .....	100
ii. Advances In Nutrigenomics .....	100
iii. Advances in Gut Microbiota.....	101
iv. Advances In Probiotics Area.....	101
6. Conclusion.....	103
Bibliography .....	104



# RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

BLUEPHARMA, Indústria Farmacêutica, S.A.

Sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Sandra Almeida





## Lista de Abreviaturas

ANVISA	Autoridade Nacional De Vigilância Sanitária
COVID-19	<i>Coronavirus Disease 2019</i>
DAG	Desenvolvimento Analítico e Galénico
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
EPI	Equipamento de Proteção Individual
FDA	<i>Food And Drug Administration</i>
GMP	<i>Good Manufacturing Practices</i>
HPAPI	<i>Highly Potent Active Pharmaceutical Ingredients</i>
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IF	Indústria Farmacêutica
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LD	Laboratório das Dissoluções
MICF	Mestrado Integrado Em Ciências Farmacêuticas
OHSAS	<i>Occupational Health and Safety Assessment Series</i>
R&D	<i>Research And Development</i>
SOP	<i>Standard Operating Procedure</i>
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats</i>



## **I. Introdução**

No âmbito da Unidade Curricular Estágio do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF), decidi escolher o ramo da Indústria Farmacêutica como uma oportunidade para diversificar o meu conhecimento na área, que não sendo tão divulgado durante o curso, compreende uma variedade de distintos departamentos para explorar, e pude assim ganhar alguma experiência e tornar este estágio num ponto de partida para o meu futuro profissional.

Dentro dos vários departamentos disponíveis para estágio, o meu estágio na Bluepharma decorreu no Departamento de Desenvolvimento Analítico e Galénico (DAG), concretamente no Laboratório das Dissoluções (LD), parte da Unidade de Formulação do Produto. Esta experiência teve a duração de aproximadamente 3 meses e foi orientado pela Dr.<sup>a</sup> Sandra Almeida e sob tutela da analista Mariana Diogo. Aqui pude realizar análises de amostras de produtos em desenvolvimento, maioritariamente ensaios de Dissolução seguindo os protocolos vigentes, e também auxiliar na preparação de meios de dissolução, testes complementares aos reagentes como medições de pH, calibração de aparelhos e verificações de fluxo aos dissolutores, bem como posterior análise do produto por técnicas de espectrofotometria e HPLC e interpretação dos resultados e gráficos obtidos.

## **2. A Bluepharma**

Trata-se de uma Indústria Farmacêutica Portuguesa fundada em 2001 na cidade de Coimbra, na sequência da aquisição de uma Unidade Industrial pertencente à Multinacional Bayer. Inicialmente, a empresa abrangia atividades de produção de medicamentos nomeadamente no fabrico, embalagem e controlo de qualidade de formas farmacêuticas sólidas, designadamente comprimidos e cápsulas. Atualmente, a atividade da Bluepharma engloba toda a cadeia de valor do medicamento, integrando mais duas áreas, a investigação e desenvolvimento (R&D) de medicamentos próprios, bem como o registo e a comercialização de medicamentos próprios e para terceiros, garantindo oferecer uma melhor qualidade vida à população, com o acesso de medicamentos de qualidade a preços competitivos <sup>[1]</sup>.

O grupo tem procurado desde a sua génese o reconhecimento e certificação necessários não só para garantir a qualidade que se espera, como também para poder competir com os mercados mais exigentes tornando-se numa Indústria Farmacêutica de prestígio. Assim, rege-se pelas Boas Práticas de Fabrico (GMP), pelas Normas ISO (*International Organization for Standardization*) em qualidade (9001) e ambiente (14001) e pela OHSAS (*Occupational Health*



and Safety Assessment Series) em segurança e saúde ocupacional (18000). Recebe em 2009 a certificação pela FDA (*Food and Drug Administration*) para o desenvolvimento e produção de formas sólidas, e também em 2016 recebe certificação pela ANVISA (Autoridade Nacional de Vigilância Sanitária), a autoridade regulamentar do Brasil <sup>[2]</sup>.

Integrado no plano estratégico de crescimento, o projeto “Bluepharma Acelera 2030” visa a internalização de resultados de R&D “*in-house*” com a produção de produtos mais complexos, sofisticados e inovadores, a transposição do papel para ferramentas digitais de informação e aumentar as exportações, permitindo incrementar significativamente a atividade económica. Nessa linha, em 2018 o grupo avança com a aquisição de instalações em Eiras, Coimbra para a posterior criação de uma Unidade Industrial para a produção de medicamentos com substâncias ativas de elevada atividade farmacológica (HPAPI), permitindo ao grupo integrar novos segmentos de mercado e diversificar o negócio. Também em 2019 é adquirida uma nova propriedade em Cernache, Coimbra onde está em construção o que será o maior parque biotecnológico do país - Bluepharma Park, destinado à produção de injetáveis complexos para o tratamento de doenças crónicas, dinamizando não só a economia portuguesa com o grande investimento realizado neste projeto, como também aumenta o grau de acessibilidade destes medicamentos à população <sup>[3]</sup>.

### **3. Análise SWOT**

Esta ferramenta surge em 1950 em Harvard por um grupo de professores e visa permitir a qualquer grupo ou empresa analisar estrategicamente as suas forças (*strengths*), fraquezas (*weaknesses*), oportunidades (*opportunities*) e ameaças (*threats*) em relação ao ambiente envolvente, de modo a poder desenvolver ações de melhoria <sup>[4]</sup>. Deste modo, a seguinte análise espelha a minha compreensão sobre os vários pontos da minha experiência enquanto estagiária curricular na Bluepharma - Indústria Farmacêutica, S.A.

#### **3.1. Pontos Fortes (*Strengths*)**

##### **3.1.1. Organização do Estágio e Atribuição de Mentores**

O meu primeiro dia de estágio iniciou com a assistência a uma vasta e completa apresentação da história, valores e desenvolvimento do grupo Bluepharma ao longo dos anos, bem como foram apresentadas as condições do estágio e um enquadramento do departamento onde fiquei alocada, juntamente com uma descrição das funções e conteúdo a aprender nos meses seguintes, o que foi ótimo permitindo-me fazer um ponto de situação e gerir expectativas quanto ao estágio.

De seguida foi-me apresentada a mentora que me tinha sido atribuída, que facilitou bastante a minha integração na empresa e esclareceu todas as minhas dúvidas permitindo-me gerar mais confiança para a realização das funções que me estavam destinadas. A mesma foi a minha instrutora a maior parte do tempo, acompanhando-me ao longo de todo o estágio. Existia um plano de estágio estruturado que me explicou, onde pude iniciar com a leitura de algumas SOPs e variadas instruções e regulamentos de modo a ficar a par com todo o funcionamento do laboratório e critérios de qualidade a cumprir ao longo de todo o processo de análise de amostras. Após esta parte mais teórica estive sob a instrução da Mariana, a minha mentora e formadora do LD, que tratou de me explicar detalhadamente o método de funcionamento de todos os equipamentos, bem como exemplificar as técnicas utilizadas nas análises. Sempre que era oportuno também me mostrava o ambiente de outros laboratórios e as tarefas que aí desempenhavam, de modo a completar o meu conhecimento sobre todo o processo de um medicamento, desde o seu desenvolvimento com todas as análises que contempla, até entrar o mercado e aqui com todas as análises de rotina que continuam a ser desempenhadas para assegurar a mais alta qualidade e segurança da população. um pouco mais sobre outras e sempre houve abertura para esclarecer qualquer dúvida que me surgisse. Ao longo de todo o estágio pude assistir ainda continuamente a formações nas plataformas online utilizadas pelo grupo acerca de pontos essenciais sobre as análises seguintes de modo a minimizar falhas pelo operador, e também sobre vários temas dentro da Indústria Farmacêutica, incluindo Ensaios de Dissolução, métodos de quantificação de amostras como HPLC e espectrofotometria UV/Vis, reporte e Investigação de Erros Laboratoriais, validação de métodos, estudos de estabilidade, entre outros, o que me permitiu não só interiorizar conhecimentos e adotá-los nas tarefas a realizar, como também obter um entendimento amplo sobre as diversas funções dentro da IF.

Deste modo, tenho a consciência de que tudo o que aprendi nestes meses só seria possível através de uma boa organização do plano de estágio bem como a atribuição de mentores, que para além de nos darem a oportunidade de esclarecer qualquer dúvida, melhoram em muito a adaptação dos estagiários aos valores da empresa no seu todo.

### **3.1.2. Condições e Ambiente de Trabalho**

Outro ponto a meu ver bastante favorável foram as condições de trabalho e o ambiente envolvente proporcionado pelos colegas de trabalho. Desde o primeiro dia que foram fornecidos não só os EPIs (Equipamento de Proteção Individual) necessários ao trabalho dentro do laboratório e um cacifo onde poderia guardar os pertences pessoais, como também

equipamento informático fundamental para aceder às plataformas de trabalho para o registo de dados, consultar documentos oficiais como os procedimentos analíticos, também participar em reuniões e ações de formação, e aceder à conta e-mail profissional para poder receber e estabelecer comunicação com outros colegas e departamentos da empresa.

Além disso, todos os colegas tornaram a minha experiência de estágio a melhor possível, o que constituiu sem dúvida um dos fatores que mais marcaram positivamente esta passagem pela Bluepharma. Interiorizando todos os conhecimentos que adquiri, pude desenvolver competências não só profissionais a nível de técnica e métodos de trabalho, como também competências sociais e de comunicação entre equipa, e ainda competências pessoais como o espírito crítico que é tão importante, o profissionalismo e a autonomia.

### **3.1.3. Formação Interna Contínua**

A Bluepharma integra no seu plano de trabalho a Metodologia *Kaizen*, que significa literalmente, mudança para o melhor, e é reconhecida como uma importante estratégia competitiva a longo prazo, utilizando-se como abordagem para a melhoria de um negócio, onde se tem demonstrado resultados positivos continuamente superiores em relação à não utilização desta metodologia. Esta cultura de melhoria contínua integra-se não só na área do negócio, como também à vida pessoal, social e de ambiente de trabalho, envolvendo todos os trabalhadores e pessoas que fazem parte de uma empresa, levando a uma progressão na qualidade e produtividade de todos os processos <sup>[5]</sup>.

Assim, várias ações eram seguidas diariamente indo de encontro a este método de trabalho, o que incluía reuniões diárias à mesma hora numa plataforma online de modo a facilitar o acesso a todos os colegas de trabalho uma vez que, como existiam turnos de trabalho, a equipa nunca estava toda unida presencialmente. Durante as reuniões era partilhado por cada um as tarefas que já tinha realizado até ao momento bem como as dificuldades sentidas ou percalços ocorridos. Também eram lembradas as tarefas que faltava realizar por cada colega permitindo que toda a equipa se mantenha informada em relação ao ponto em que se está possibilitando uma gestão e redistribuição de tarefas com o objetivo de alcançar as metas diárias previamente estabelecidas. Estas informações eram anotadas em sistema e os pontos mais relevantes eram afixados no quadro *Kaizen* num local visível e acessível a todos, onde para além disso era dada liberdade para que cada um pudesse partilhar as suas sugestões e ideias de melhoria em determinado processo ou tarefa a executar.

Ainda eram agendadas ações de formação para todos os colaboradores, por norma online, sobre vários temas que uma Indústria Farmacêutica contempla e que é importante estar instruído para tal, pois apesar de existirem vários departamentos, estão todos conectados entre si e é crucial ter um entendimento geral sobre cada um para que todo o *work-flow* de uma grande empresa como a Bluepharma possa continuar em funcionamento.

### **3.1.4. Autonomia no Desempenho de Tarefas**

Após estas formações que careciam de uma avaliação aos conhecimentos numa plataforma online após a assistência, bem como através da formação contínua realizada que recebi ao longo do estágio sobre todos os processos e tarefas a realizar no laboratório, pude ganhar alguma autonomia na execução deste trabalho. Isto permitiu-me não só testar e adotar os meus conhecimentos técnico-científicos, como também errar por mim própria e dar a volta à situação conseguindo outras soluções e alternativas, estimulando o meu sentido crítico e responsabilidade na execução destas tarefas. O auxílio sempre prestado pelos colegas de trabalho do laboratório deu-me uma grande base de segurança, o que me permitiu desenvolver confiança no meu trabalho incentivando-me continuamente a querer fazer mais e melhor.

## **3.2. Pontos Fracos (*Weaknesses*)**

### **3.2.1. Duração do Estágio**

Considero que, apesar de todos os conhecimentos que adquiri durante o período de estágio, muito ficou por esclarecer dentro da magnitude de conhecimentos que há numa IF. Isto porque, ao restringir o meu estágio ao Laboratório das Dissoluções pude, claro está, focar a minha aprendizagem nestes mesmos conceitos, no entanto, ficam por explorar outros temas dentro do Desenvolvimento Analítico. Ainda dentro da IF, departamentos como R&D, Controlo de Qualidade e Desenvolvimento do Negócio suscitam-me algum interesse e gostaria de ter oportunidade de saber mais sobre estas áreas, onde uma experiência de estágio parece-me ser das opções mais vantajosas para um estudante perto do fim de curso. Isto porque considero que só com a prática e a envolvência no ambiente de trabalho é possível ter uma ideia do que é realmente um trabalho.

Deste modo, considerando que IF constitui uma das saídas profissionais que agrega mais jovens recém-formados em Ciências Farmacêuticas, seria seguramente muito benéfico para cada estudante ter a oportunidade de explorar mais áreas dentro da Indústria, permitindo alargar o seu currículo e fazer uma escolha mais consciente assim que surge a oportunidade.

### **3.3. Oportunidades (*Opportunities*)**

#### **3.3.1. Contacto com Documentos Oficiais e Ferramentas de Trabalho**

Estagiar numa Indústria como a Bluepharma, que se rege por elevados *standards* de qualidade, deu-me a oportunidade de ter contacto direto com documentação oficial nomeadamente SOPs e outros procedimentos laboratoriais, e também *guidelines* elaboradas pela EMA ou pela FDA, que potenciam a correta execução laboratorial das análises por todos os colaboradores da empresa, uniformizando processos e permitindo detetar e corrigir mais facilmente potenciais erros ou falhas na execução de uma tarefa.

Também me foi possível contactar com algumas das plataformas e ferramentas utilizadas pelo grupo para comunicar e agilizar processos, nomeadamente o *Microsoft Teams* para comunicar e assistir a formações, o sistema documental *Veeva Vault*, o *Success Factors* para gerir as avaliações das respetivas formações, também o *Microsoft Excel* para introduzir dados e analisar resultados, e ainda outras plataformas relacionadas com o funcionamento dos dissolutores, espectrofotómetros e HPLCs.

Penso que este contacto, aliado ao facto de ter podido praticar a língua inglesa devido a que muitos documentos e plataformas utilizadas estão configurados nesse idioma, demonstrou representar uma mais-valia uma vez que coma globalização e expansão da própria empresa para mercados fora de Portugal, o entendimento da língua inglesa nos dias que correm é crucial e fez parte do meu crescimento pessoal e profissional, capacitando-me com valências que num outro ambiente sem contacto com tudo isto não seria possível.

#### **3.3.2. Aquisição de Conhecimentos sobre Métodos Analíticos e Acompanhamento de Processos**

Durante este estágio curricular tive a oportunidade de colocar em prática vários conhecimentos obtidos durante o curso, nomeadamente as unidades curriculares de Métodos Instrumentais de Análise e Tecnologia Farmacêutica foram bastante relevantes para as funções que desempenhei no laboratório, uma vez que me capacitaram com o conhecimento teórico necessário para a aplicação na prática. Assim, pude participar na realização de análises a amostras de produtos em desenvolvimento envolvendo métodos de dissolução, métodos de quantificação como espectrofotometria e HPLC, e alguns métodos complementares aos aparelhos como verificações de fluxo, calibração de balanças analíticas, medição de pH, entre outros. Complementando a minha formação foram-me demonstradas algumas técnicas realizadas fora do LD, nomeadamente titulações *Karl-Fischer* e a determinação do tamanho de

partícula a laser com *Mastersizer*, onde me foram explicados os pontos críticos na realização de cada método.

Pude também acompanhar o *work-flow* de uma amostra sólida de forma simplificada, que após as etapas de R&D passa para a fabricação onde são produzidos *trials* de lotes piloto que chegavam ao LD para análises de dissolução, que, em conjunto com outras análises como desagregação, estabilidade em determinadas condições e quantificação das amostras, são interpretados os resultados obtidos para posteriormente serem feitas alterações a nível da formulação e outros ajustes se necessário, com o objetivo de alcançar o melhor produto possível, que mais tarde segue para produção industrial de lotes e respetiva comercialização dentro do país ou para exportação.

### **3.4. Ameaças (*Threats*)**

#### **3.4.1. Medidas de Contingência Aliadas à COVID-19**

Desde o início da pandemia que as IF se viram obrigadas a modificar a sua realidade profissional, implementando medidas de contingência de modo a minimizar a propagação do novo coronavírus dentro da empresa. Deste modo, foi instituído o teletrabalho obrigatório em grande parte dos departamentos na Bluepharma e também o desfasamento dos turnos de trabalho especialmente nas secções laboratoriais, impedindo que existissem grandes agregações de trabalhadores num espaço limitado como é um laboratório. Com isto, o meu estágio reduziu em uma hora e meia diária de tempo passado no laboratório, o qual era passado no computador a assistir a formações online, ler SOPs e ademais regulamentação, recolher e organizar dados, entre outras tarefas.

Entre as medidas implementadas, a restrição de certos espaços antes utilizados para convívio nos tempos de pausa, as barreiras físicas na área da restauração, e a cessação provisória de determinadas atividades de convívio antigamente realizadas como o BlueFun, Jantar de Natal, corridas noturnas, ações de voluntariado, entre outras. Todas estas medidas que visam minimizar o contacto entre colegas para mitigar o risco de contágio podem constituir um ponto negativo num estágio curricular que, uma vez decorrer por somente 3 meses, diminui as interações entre colegas de departamentos diferentes dificultando os momentos de socialização e partilha de ideias, que considero ser um fator bastante importante dentro de uma empresa.

### **3.4.2. Plano de Estudos com Abrangência Limitada da IF**

Considero que a realidade da Indústria Farmacêutica passa um pouco despercebida no plano de estudos de MICF, que sendo já tão vasto, torna difícil a inclusão de novas unidades curriculares, no entanto, uma abordagem diferente e mais direcionada para a IF seria extremamente útil aos estudantes que pretendam envergar pela área, que cada vez mais interessa aos jovens recém-formados.

Uma das dificuldades sentidas, no geral, inicia pela escolha do departamento para a candidatura ao estágio em IF, pois uma vez não divagada essa informação previamente durante o curso, acerca das diversas áreas e departamentos que podem fazer parte de uma IF, parece-me normal que um estudante perante essa situação se sinta um pouco perdido. Para além disso, dentro do mesmo departamento podem coexistir funções muito variadas, que são desconhecidas para quem está de fora e até poderiam constituir fonte de interesse profissional para algum estudante, no entanto, uma vez não serem dadas a conhecer essas funções, torna mais difícil e inespecífica a procura de um trabalho que se pareça adaptar e adequar às expectativas de cada um. Deste modo, penso que poderia ser muito benéfico não só uma maior incisão sobre esta saída profissional por parte da faculdade ao longo dos 5 anos de curso, já que será o futuro de uma parte significativa dos estudantes, como também por parte de entidades externas com a realização de ações de formação e workshops interativos que possam abranger tudo o que uma IF pode trazer.

## **4. Conclusões Finais**

Com a realização deste estágio curricular pude iniciar o meu contacto com a vertente da Indústria Farmacêutica, onde me foi possível vivenciar o seu dia-a-dia percebendo o grau de complexidade e de esforço envolvidos no desenvolvimento de medicamentos.

Pude sedimentar algum do conhecimento que adquiri durante o meu percurso em MICF e ainda complementar a minha formação com técnicas e competências que seguramente serão muito relevantes para o meu percurso profissional. Ter contactado com diversos profissionais de diferentes formações base, que me apoiaram e se certificaram que eu dava o melhor de mim, fez-me valorar mais a colaboração e interajuda entre colegas de equipa que, constituindo um dos pilares basilares para o sucesso de uma empresa, me fizeram crescer e aprimorar as minhas aptidões comunicativas contribuindo para o meu desenvolvimento pessoal.

Assim, só posso agradecer a todos os colegas e equipa admirável que tornaram esta minha primeira experiência no diverso mundo da IF o mais proveitosa possível.

## Referências Bibliográficas

- [1] GRUPO BLUEPHARMA – **Quem Somos**. [Acedido a 10 de março de 2022]  
Disponível na internet: <https://www.bluepharma.pt/about-us.php>
- [2] GRUPO BLUEPHARMA – **História**. [Acedido a 10 de março de 2022]  
Disponível na internet: <https://www.bluepharma.pt/about-history.php>
- [3] GRUPO BLUEPHARMA – **Projeto 42.611**. [Acedido a 10 de março de 2022]  
Disponível na internet <https://www.bluepharma.pt/P2020-Acelera2030.php>
- [4] Friesner, Tim. **History of swot analysis**. Marketing Teacher. (2011). 2000-2010.
- [5] KAIZEN INSTITUTE – **About us**. [Acedido a 12 de março de 2022]. Disponível na internet: <https://www.kaizen.com/about-us>





# **RELATÓRIO DE ESTÁGIO EM FARMÁCIA COMUNITÁRIA**

**- Farmácia Isabel Folhas –**

Sob a orientação da Dr.<sup>a</sup> Isabel Maria Fresco Costa Folhas



**FARMÁCIA  
ISABEL FOLHAS**



## Lista de Abreviaturas

ANF	Associação Nacional das Farmácias
COVID-19	<i>Coronavirus Disease 2019</i>
DCI	Denominação Comum Internacional
DGS	Direção Geral de Saúde
FC	Farmácia Comunitária
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
INFARMED	Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde
MICF	Mestrado Integrado em Ciências Farmacêutica
MNSRM	Medicamento Não Sujeito a Receita Médica
MV	Médico Veterinário
OF	Ordem dos Farmacêuticos
PEMV	Prescrição Eletrónica Médico-Veterinária
PVP	Preço de Venda ao Público
SBV	Suporte Básico de Vida
SII	Síndrome do Intestino Irritável
SNS	Serviço Nacional de Saúde
SWOT	<i>Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats</i>



## **I. Introdução**

A Farmácia Comunitária (FC) é sem dúvida o setor farmacêutico que mais jovens Farmacêuticos acolhe. Ao longo do meu percurso académico pude notar não só a relevância da área na Saúde em Portugal, como também o modo como nós futuros profissionais no setor temos um papel pertinente, que tenta ir de encontro às expectativas da população.

Entre as várias funções do Farmacêutico numa FC, inclui-se a dispensa de medicamentos, aconselhamento farmacoterapêutico avaliando sinais e sintomas, revisão da farmacologia, deteção de possíveis interações farmacológicas atuando sobre elas com a colaboração de outros profissionais de saúde quando necessário, também a realização de consulta farmacêutica quando existe esse serviço na farmácia, administração de vacinas e outros injetáveis, preparação de manipulados, medição de parâmetros bioquímicos e promoção de medidas não farmacológicas fomentando a mudança para hábitos mais saudáveis <sup>[1]</sup>, contribuindo para melhorar o estado de saúde dos utentes que procuram na farmácia uma solução para os seus problemas de saúde, mas não apenas. Muitas vezes o utente procura no farmacêutico um ouvido disponível e um olhar atento, que possa escutar e com uma palavra amiga amenizar as suas preocupações. Muitas vezes o utente vem à farmácia com um pedido de ajuda disfarçado num rosto sem expressão, onde aqui é importante na minha consideração, que o farmacêutico possa estar atento e estabelecendo um grau de proximidade e confiança com o utente permita que este nos comunique a sua situação. Maus-tratos em casa, luto por alguém querido que partiu, convivência com alguém debilitado, solidão ou outra situação stressante ou traumática que possa existir. Considero que o papel do farmacêutico enquanto agente de Saúde Pública transcende e vai muito além do Medicamento, faz parte o estar atento aos sinais e estabelecer um papel de proximidade com as populações, tendo por base sempre a empatia, sendo fulcral na deteção precoce de diversas doenças e outras situações de risco, permitindo tornar o dia de cada um um pouco mais generoso.

Dito isto, foi-me dada a oportunidade de realizar um estágio curricular na Farmácia Isabel Folhas em Coimbra durante 4 meses, sob a orientação da Diretora Técnica Dr.<sup>a</sup> Isabel Folhas, uma experiência que foi sem dúvida muito profícua para o meu crescimento a todos os níveis.

## **2. A Farmácia Isabel Folhas**

Este estabelecimento de Saúde conta já com mais de 50 anos de serviço e é hoje um símbolo de profissionalismo, dedicação, empatia e proximidade com o utente. Para além da equipa de profissionais de saúde que contempla, conta com consultas de nutrição e podologia.

Está localizada na zona da Solum em Coimbra, encontrando-se bastante acessível ao público, não só por ter uma área destinada a estacionamento ao seu redor, como conta com uma paragem de autocarro à distância de metros, e está a par com outros estabelecimentos comerciais, o que acaba por dinamizar o espaço. Isto facilita não só a quem vem à farmácia de passagem, como também a quem vai buscar a sua medicação habitual e esclarecer as suas dúvidas. Faz parte de uma área bastante movimentada e segura da Cidade de Coimbra, com um Shopping e o Estádio da Cidade a escassos minutos a pé, e também Escolas Básicas, Secundárias e de Ensino Superior. Assim, é frequentemente comparecida por estudantes, e também familiares e outros residentes, refletindo-se no tipo de público que aflui à farmácia, o que me permitiu contactar com utentes de diferentes faixas etárias e estratos socioeconómicos.

Contempla uma porta de entrada e uma porta de saída, sendo a primeira adaptada a pessoas com mobilidade reduzida, e um sistema de senhas com atendimento prioritário, de modo a permitir que haja um atendimento ordenado e justo, o que por sua vez foi um ponto positivo aquando na pandemia, pois permite que não haja o cruzamento de utentes dentro da farmácia e impede que aglomerados de pessoas se formem, uma vez que o atendimento tem em conta a ordem das senhas. Dispõem ainda de um *PharmaShop24*, um expositor com produtos não sujeitos a receita médica localizado no exterior na farmácia, que permite não só por um lado agilizar a compra de produtos como desinfetantes, produtos de higiene oral, métodos de contraceção, testes de gravidez, produtos de higiene íntima, material de primeiros socorros, entre outros, que pode ser feito inclusive fora do horário de funcionamento da farmácia, como também permite tornar a compra mais reservada.

## **3. Análise SWOT**

O presente relatório de estágio contempla uma análise SWOT, um acrónimo da sigla inglesa *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*, que pretende realçar os pontos fortes e os pontos fracos que senti ao longo da minha experiência, bem como as oportunidades de melhoria e ameaças que se fazem sentir, refletindo uma avaliação crítica da minha parte enquanto estagiária integrada na equipa da Farmácia Isabel Folhas.

### **3.1. Pontos Fortes (Strengths)**

#### **3.1.1. Equipa Técnica e Proximidade ao Utente**

Ao longo do meu estágio, sempre olhei para a equipa técnica como um exemplo de competência, dedicação, simpatia, cuidado e sobretudo empatia com o utente. Isto fomenta a criação de uma relação mais próxima deste com o farmacêutico, no qual deposita confiança e torna a farmácia no seu espaço de saúde que visita com mais assiduidade. Com isto, desde o desenvolvimento da farmácia com a atual gerência que o leque de utentes “habituais” se tem expandido cada vez mais, o que beneficia não só a farmácia, mas também o farmacêutico, que possuindo já os dados do utente no sistema, após a criação da ficha de cliente, torna possível aceder à sua medicação habitual, frequência de dispensa e posologia, facilitando o aconselhamento e tornando-o mais rápido e seguro para o próprio utente.

#### **3.1.2. Organização e Rotação de Funções entre Colegas de Equipa**

A farmácia organiza-se distribuindo algumas das funções entre colegas de trabalho, funções essas que incluem a gestão dos *stocks*, gestão das validades segundo o princípio “*first expired, first out*” onde são criadas listas por datas de validade e se incentiva a escoar os produtos com validades mais curtas de modo a minimizar quebras de *stock* inessárias. Também o controlo dos psicotrpicos revendo se a documentação que é necessário enviar para o INFARMED no final de cada mês está em dia, a gestão do *Pharmashop24*, a organização de ações de marketing e das promoções vigentes que também tem de ser comunicado às respetivas marcas de modo a receber o retorno dos valores, a correção do receituário que por sua vez é verificado detalhadamente para ser enviado para as respetivas entidades das participações no último dia de cada mês, entre outras. Estas tarefas vão alternando entre os colegas de modo a que se certifique a autonomia e competência de todos no desempenho de cada tarefa, e encontram-se previamente definidas e afixadas no quadro *Kaizen* da Farmácia que está visível e disponível a todos os colaboradores, minimizando falhas de comunicação e permitindo uma melhoria contínua desta gestão, seguindo a metodologia japonesa.

#### **3.1.3. Robot e Grande Quantidade de Stock**

A existência de robot na farmácia permite agilizar bastante os processos, estando conectado com o programa de atendimento Sifarma®, auxilia o farmacêutico na dispensa de medicação sendo que evita o deslocamento do próprio até gavetas, prateleiras ou armazém, diminuindo tempos de espera e focando a sua total atenção nas necessidades do utente. Para



além disso, a existência desta tecnologia permite poupar espaço na farmácia que seria utilizado em estruturas para arrumação, e também é muito útil no armazenamento ordenado de medicamentos, aos quais é atribuída uma sequência que permite a sua identificação no interior do robot sempre que necessário. Serve também para manter os psicotrópicos guardados e controlados e para fazer uma gestão dos *stocks*, controlo de prazos de validade e das devidas condições de temperatura e humidade, facilitando todo o processo.

#### **3.1.4. Gestão das Reservas**

Quando porventura mediante um pedido de um utente a farmácia não dispunha em *stock* de determinado produto, era verificado se tal estaria disponível nos armazenistas, e uma vez que os habituais fazem entregas duas vezes por dia na farmácia, no início da manhã e no início da tarde, tornava possível agilizar a encomenda e disponibilizar o produto ainda no próprio dia ou na manhã seguinte, salvo determinados produtos que eram encomendados e recebidos a partir de outros fornecedores. Após a encomenda era criada uma reserva com os dados do utente, que era realizado quer em sistema quer num bloco de folhas que se guardava num local disponível a todos os colegas, tornando o processo o mais inequívoco possível. Sempre que necessário e solicitado pelo utente, aquando da receção da encomenda na farmácia, um colega tratava de contactar o utente avisando que o mesmo já se encontrava disponível para vir levantar, o que demonstra, na minha consideração, bastante cuidado por parte da equipa. Por último, quando a pessoa vem levantar os seus produtos, tem disponível no sistema de senhas uma senha prioritária específica só para o levantamento de reservas, tornando mais rápido e ágil o atendimento.

#### **3.1.5. Dermocosmética e Aconselhamento**

A área da Dermocosmética tem sido cada vez mais explorada pela Indústria e pelo marketing das marcas, tornando a sua procura crescente no ambiente da farmácia. Assim, a Farmácia Isabel Folhas está dotada de uma ampla gama de marcas como René Furterer®, Lierac®, SkinCeuticals®, Klorane®, Vichy®, Avène®, entre muitas outras, de modo a tentar corresponder às expectativas dos vários públicos. É uma área que está em constante atualização e renovação com a introdução de novos ingredientes e formulações no mercado, o que pressupõe que exista por sua vez uma grande atenção e adaptação pela equipa da farmácia, sendo possível fazer o aconselhamento destes produtos aquando da sua procura. Deste modo, não só notei um vasto conhecimento das marcas e características que cada produto inclui por cada colega, como através da partilha dessa informação pude enriquecer o

meu entendimento na matéria, colocando-me mais à vontade para fazer o aconselhamento dos produtos da área da Dermocosmética. A farmácia dispõe também de um serviço mensal de aconselhamento personalizado com a vinda de conselheiros de grupos de setor, que se disponibilizam para escutar as preocupações de cada cliente em relação a determinado problema de pele por exemplo, e sugerem algumas medidas e produtos que podem ajudar na concretização dessas necessidades. Quando pertinente também procedem à aplicação dos mesmos na pele do cliente e esclarecem qualquer dúvida que possa surgir, em ambiente de gabinete que a farmácia dispõe para tal. Para além disso, distribuem amostras de outros produtos para que a pessoa possa experimentar e conhecer novas gamas e marcas, e disponibilizam-se para informar e esclarecer os colegas da equipa da farmácia sobre as marcas cedendo documentos informativos em relação às características de cada produto, nomeadamente fluxogramas. A união destes fatores permitiu-me atualizar as minhas bases e fazer progredir o meu conhecimento na área.

### **3.1.6. Administração de Vacinas e Medicamentos Injetáveis**

A administração de vacinas não incluídas no Plano Nacional de Vacinação e de outros medicamentos injetáveis é um dos serviços que consta nas farmácias comunitárias desde 2008 com a entrada em vigor da Portaria n.º 1429/2007, de 02 de novembro pelo INFARMED <sup>[2]</sup>, posteriormente com alterações introduzidas pela Portaria 97/2018, de 9 de abril <sup>[3]</sup>. Os requisitos a cumprir devem seguir a Deliberação n.º 139/CD/2010, de 21 de outubro <sup>[4]</sup>, retificada pela Deliberação n.º 145/CD/2010, de 4 de novembro <sup>[5]</sup>, e o farmacêutico deverá ter uma formação prévia que o habilite para tal, formação esta promovida pela Ordem dos Farmacêuticos (OF).

Em continuação, a farmácia Isabel Folhas dispõe deste serviço tornando-se numa mais-valia para a população, particularmente na vacinação contra a gripe sazonal, na qual dezenas de utentes aguardam a disponibilidade da farmácia para se manterem protegidos contra o vírus que pode ser fatídico para os mais vulneráveis, tornando este serviço num contributo notável para a Saúde Pública em Portugal. Assim, a equipa da farmácia informa os utentes que pretendam fazer a toma da vacina da altura a partir da qual aceitam reservas, e elaboram uma lista com os dados de cada utente de modo a terem uma ideia aproximada acerca da quantidade de vacinas que serão necessárias rececionar na farmácia para poder alcançar as necessidades de todos os utentes que manifestaram interesse, de um modo organizado e evitando assim que haja falta de produto ou excedente.

## **3.2. Pontos Fracos (Weaknesses)**

### **3.2.1. Concomitância de Sistemas de Atendimento**

A Farmácia Isabel Folhas integra até à data quer o sistema informático Sifarma 2000®, quer o Novo Módulo de Atendimento do Sifarma®, ambos desenvolvidos e comercializados pela Glintt, uma empresa Portuguesa de Consultoria e Serviços Tecnológicos. No início do meu estágio desempenhava maioritariamente funções de *backoffice* como a receção de encomendas, gestão de devoluções, arrumação de medicamentos e impressão de códigos de barras para posterior marcação nos produtos de venda livre. Aqui utilizei grande parte do tempo o sistema Sifarma 2000®, no entanto, posteriormente quando comecei o atendimento ao balcão era predominante a utilização do Novo Módulo de Atendimento do Sifarma®, onde se tornava possível aceder a diversas informações sobre os medicamentos como indicações terapêuticas, posologias, interações medicamentosas, efeitos secundários e contraindicações, tornando o atendimento mais rápido e seguro, pois não despendia tanto tempo a buscar essa informação noutra plataforma. Isto permitiu-me, em parte, trabalhar com os dois sistemas, o que considero uma vantagem. No entanto, como referi, utilizava cada sistema para funções diferentes, uma vez que o novo ainda não integrava algumas destas, o que me causou alguma confusão e dificuldade de adaptação. Para além disso, tarefas como calcular PVPs e aplicar promoções que estivessem em vigor, muitas vezes tinham que ser realizados no Sifarma 2000®, em simultâneo com a realização do atendimento no Novo Módulo de Atendimento do Sifarma®, o que tornava mais complexo o atendimento, desviando por vezes a minha atenção do utente para aprender a manusear os dois sistemas, o que considero ter sido um ponto menos positivo nesta experiência curricular.

### **3.2.2. Número de Funcionários**

Ao longo do meu estágio na Farmácia Isabel Folhas, senti em vários momentos que a inclusão de mais elementos disponíveis para realizar funções teria sido muito benéfico para a minha formação. Isto ter-me-ia permitido ausentar-me da função de atendimento ao balcão para poder atentar melhor na realização de determinadas funções pelos colegas, nomeadamente na elaboração de manipulados e na assistência a formações por delegados de marcas que ocasionalmente visitavam a farmácia. Também poderia ter tido a oportunidade de presenciar mais vezes o aconselhamento farmacêutico por parte da equipa em situações específicas que me ajudariam certamente a aumentar o meu grau de conhecimento e experiência, com a observação de feridas e afeções cutâneas por exemplo, com o posterior

aconselhamento efetuado, algo que considero ser de extrema relevância para a progressão na área enquanto profissional. No entanto, saliento que o facto de ter realizado maioritariamente atendimento ao balcão me dotou de valências que só seria possível com essa experiência, concluindo que evolui bastante com todo o conjunto de funções realizadas.

### **3.2.3. Medição de Parâmetros Bioquímicos**

Por razões de segurança, de modo a diminuir o contacto interpessoal evitando o contágio, a medição de parâmetros bioquímicos foi suspensa pela Direção Geral de Saúde aquando da pandemia por *SARS-CoV-2*. Estes parâmetros incluíam a glicémia, colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos e ácido úrico, que eram muitos úteis particularmente no contexto de aconselhamento farmacêutico, pois para além dos dados sobre a terapêutica que o utente já faz, com este tipo de valores é possível retirar outras conclusões e fazer uma monitorização mais personalizada sobre o estado de saúde dos utentes. Isto inclui incentivar a mudanças no estilo de vida ou até alertar para a necessidade de o utente ser examinado por um médico quando estamos perante um sinal de alerta. Deste modo, considero ser muito pertinente este tipo de serviço numa farmácia, e o facto de não ter podido colaborar nessas medições não me permitiu testar e progredir com os meus conhecimentos na matéria.

### **3.2.4. Plano de Estudos de MICF**

Uma vez que a Farmácia Comunitária é dos setores que mais emprega jovens farmacêuticos, considero importante e pertinente para os alunos que, áreas que representam alguma relevância na procura por produtos, como é o caso da Veterinária, Cosmética e Dermocosmética, Puericultura e Ortopedia, sejam mais discutidas e dadas a conhecer ao longo do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

A área da Veterinária gerou-me alguma insegurança no momento dos atendimentos, uma vez que eram produtos pedidos regularmente por utentes, quer para desparasitação interna ou externa dos seus animais de estimação, quer para outros problemas e afeções, e de facto considero que não é uma disciplina tão explorada na faculdade, que nos possibilite distinguir características entre produtos e marcas e melhor indicar consoante cada situação.

Também na área da Dermocosmética penso que alguns pontos poderiam ser mais discutidos ao longo do curso de modo a sermos colaboradores mais informados aquando de um atendimento. Pude perceber que alguns casos eram bastantes recorrentes, nomeadamente eczemas, psoríase, acne, melasma, xerose, queda de cabelo, entre outros. Muitas destas poderíamos relacionar com o stress diário, o uso de máscara de proteção,

desregulações hormonais, alimentação desequilibrada, privação de sono, e assim penso que uma abordagem por estas vertentes, e não apenas utilizar como único tratamento os cuidados de pele, que não deixam de ser importantes, mas que por si só podem não ser suficientes para disfarçar sinais cuja etiologia engloba vários destes fatores, não deve ser ignorada e penso que esta questão da mudança de hábitos e suas repercussões deveria ser mais trabalhada e incutida.

A área da Puericultura representa por sua vez uma parte das vendas dado que um considerável número de grávidas e recém mães acodem à farmácia para pedir aconselhamento e comprar alguns produtos destinados ao desenvolvimento e bem-estar do bebé nos primeiros anos de vida. Nesta área senti sem dúvida que o meu conhecimento não era muito abrangente, apesar de que pude esclarecer as minhas dúvidas que surgiram durante os atendimentos com os colegas da farmácia, no entanto, gostaria de ter ganhado maior instrução na área.

Ainda a área da Ortopedia que também posso destacar devido à procura recorrente por produtos como meias de descanso, meias de compressão, tipos de palmilhas, dispositivos médicos para calosidades, cotovelleiras, joelheiras e pés elásticos, entre outros, nos quais por vezes senti dificuldade em aconselhar os produtos em questões relacionadas com a elasticidade e adaptabilidade dos mesmos a cada situação em particular. Também neste setor fui auxiliada pela equipa quando necessário, mas teria interesse em ter ganhado uma maior noção sobre este tipo de produtos e a sua utilidade em casos particulares.

Por último, considero que, sem dúvida, o curso de MICEF deveria ser dotado de um curso pelo menos básico de primeiros socorros e suporte básico de vida (SBV). O primeiro porque, era praticamente diariamente que utentes vinham à farmácia em busca de material para fazer curativos, questionando o farmacêutico sobre que produtos seriam uma melhor opção em cada caso, nos quais os colegas com toda a sua bagagem de experiência facilmente identificavam e vendiam os produtos mais adequados. Quando era necessário e não se tratava de uma lesão grave, o próprio colega procedia ao curativo no gabinete do utente disponível na farmácia. Também pude presenciar mais do que uma vez situações onde me parece relevante ter formação em SBV, por exemplo quando um utente perde os sentidos ou se sente indisposto quer dentro do espaço da farmácia quer nos seus arredores, onde o farmacêutico agilmente pode prestar auxílio, dentro das suas possibilidades para tal. Isto demonstra a meu ver uma enorme utilidade para a Saúde Pública, e senti de facto várias vezes que deveria saber mais para poder ser útil neste tipo de situação, onde seguramente a formação pode salvar vidas. Isto porque, uma vez que a FC é um setor que integra tantos farmacêuticos, e sendo dotado de todas estas áreas do saber penso que, tendo uma formação prévia de forma abrangente nestas matérias possa ser muito conveniente na prática quando

somos postos à prova nos momentos de atendimento ao balcão, permitindo melhorar a nossa confiança no aconselhamento, focando a atenção nas necessidades dos utentes.

### **3.3. Oportunidades (*Opportunities*)**

#### **3.3.1. Dispensa de Medicação Hospitalar**

Aquando da pandemia de COVID-19 foi autorizado ao abrigo do Despacho n.º 4270-C/2020, de 7 de abril pelo Ministério da Saúde <sup>[6]</sup> e da Circular Normativa n.º 005/CD/550.20.001 pelo INFARMED <sup>[7]</sup>, o fornecimento de medicamentos dispensados pelas farmácias hospitalares aos doentes em regime de ambulatório, através das farmácias comunitárias, que tem vindo a ser renovado pelas vantagens que tal significa para o doente, que lhe torna mais acessível o acesso à sua medicação, muitas vezes de carácter crónico. Minimizando tempos de espera nas farmácias hospitalares e aglomerados de utentes dentro dos hospitais, permite diminuir o risco de contágio quer pelo novo Coronavírus quer por outro microrganismo. Isto foi possível devido à criação do Sifarma® Clínico, uma nova secção dentro do sistema Sifarma® já conhecido, onde o farmacêutico deve preencher todos os dados necessários relativamente quer ao utente que vem levantar a medicação, quer aos próprios medicamentos que têm que ser verificados e contabilizados pelo farmacêutico aquando da sua chegada à farmácia. É um processo bastante rápido e intuitivo que pude presenciar algumas vezes, o qual considero representar uma oportunidade para o setor contribuir ainda mais para o conforto e bem-estar da população.

#### **3.3.2. Medicamentos Manipulados**

Classificando-se como «qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico», o medicamento manipulado e a sua prescrição e preparação são regidos pelo Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril <sup>[8]</sup>, e cujas boas práticas se regem pela Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho <sup>[9]</sup>, ambos emitidos pelo Ministério da Saúde. Assim, esta é uma das tarefas que podem ser realizadas numa farmácia comunitária, se se verificarem as devidas condições e material de trabalho.

A farmácia Isabel Folhas realiza poucas preparações de manipulados, um caso que se verifica de igual forma em várias outras farmácias em Portugal por não ser atualmente uma prática tão comum, no entanto, existem algumas FC que se dedicam mais especificamente a este tipo de preparações, estando amplamente munidas de todo o material e matérias-primas necessários. Ainda assim, foi-me possível auxiliar na preparação de um manipulado, uma

solução alcoólica de ácido bórico à saturação para aplicação auricular, utilizado no tratamento tópico de otites externas pela sua atividade bacteriostática e fungistática, cujas ficha de preparação e respetiva legislação se encontram em anexo. Isto permitiu-me, ainda que pontualmente, colocar em prática conhecimentos adquiridos nas unidades curriculares de Farmácia Galénica e Dermocosmética.

### **3.3.3. Cartão Saúde e Troca por Produtos**

Uma vez que a farmácia Isabel Folhas pertence ao grupo das Farmácias Portuguesas, contempla uma das vantagens que é ter o Cartão Saúde, permitindo ao utente usufruir de benefícios por cada vez que se desloca à sua farmácia habitual. Com este cartão pode acumular pontos com a compra de MNSRM, suplementos alimentares, produtos das áreas da dermocosmética, beleza, puericultura, ortopedia, saúde oral, entre outros, incluindo serviços farmacêuticos, que podem posteriormente ser descontados do cartão, quer através da troca de pontos por produtos do catálogo de pontos, que pode ser consultado online no website das Farmácias Portuguesas ou fisicamente numa farmácia que pertença ao grupo, quer pela conversão dos pontos em vales que podem ser descontados no momento de pagamento da conta na farmácia quando solicitado. Assim, a farmácia Isabel Folhas contempla à disposição dos utentes uma variedade destes produtos incluídos no catálogo dos pontos tais como gel de banho, sabonete líquido, creme hidratante, gel e toalhetas desinfetantes, pastas de dentes, entre muitos outros, que se encontram num expositor na farmácia ao lado dos balcões de atendimento de modo a tornar visível a sua visualização pelos clientes aquando das suas compras. Deste modo, considero ser uma grande vantagem ter esta variedade de produtos ao dispor, revelando ser um fator que agrada aos utentes já fidelizados na farmácia e a novos clientes que se possam sentir atraídos por este benefício.

### **3.3.4. Formação Complementar Contínua**

A existência de uma política de formação complementar contínua permite ao farmacêutico uma constante atualização de conhecimento técnico-científico que se revela crucial para o exercício da atividade farmacêutica. Assim o farmacêutico pode e deve ao longo do tempo investir na própria formação nas diversas áreas, quer através de cursos e webinars promovidos pela OF, quer através de formações acerca dos produtos por parte de delegados de informação médica de diferentes laboratórios e empresas. Estes visitam as farmácias segundo uma periodicidade e realizam formações expositivas onde apresentam novos produtos que serão lançados para o mercado, dando a experimentar o sensorial do produto ou

disponibilizando amostras aos colegas de modo que através do próprio *feedback* possam realizar um aconselhamento ao utente mais personalizado. Também relembram características e diferenças entre alguns produtos já comercializados enfatizando as vantagens e indicações terapêuticas de cada um, havendo sempre abertura por parte dos delegados para esclarecer qualquer tipo de dúvida relacionada com produtos ou com a marca em si. Considero estas formações de extrema relevância para a evolução pessoal e o progresso profissional na área, sendo que durante a minha experiência pude assistir a algumas destas formações nomeadamente relativamente a suplementos alimentares multivitamínicos e a MNSRM direcionados para a obstipação e para as alergias, complementando sem dúvida a minha instrução nesses setores.

### **3.3.5. Consultas de Nutrição e Podologia**

A farmácia inclui nos seus serviços as consultas de Nutrição e mais recentemente de Podologia, com profissionais especializados. A inclusão deste aconselhamento nutricional é, a meu ver, uma grande mais-valia, quando é possível constatar em ambiente de atendimento ao balcão, a crescente chegada de prescrições contendo medicamentos para o tratamento de problemas de saúde nos quais se sabe que o papel da alimentação está relacionado com a fisiopatologia destas doenças. Também se nota uma acentuada procura por suplementos alimentares e outros produtos com a finalidade de “perder peso” ou de “reduzir o apetite por doces”. Deste modo, considero importantíssimo haver este tipo de consulta que permita sensibilizar o utente para a importância de ter bons hábitos alimentares, e com este aconselhamento personalizado ser possível apoiar e auxiliar o utente a alcançar os seus objetivos quer estéticos, quer para a promoção do seu bem-estar no geral.

Também o serviço de Podologia apresenta muito benefício para os utentes, nomeadamente na prevenção, diagnóstico e tratamento de alterações relacionadas com o pé, quer sejam do foro dermatológico como calosidades, micoses, feridas; do foro biomecânico como pé calvo ou plano e alterações da marcha; ou do foro postural avaliando todo o sistema postural e consequentes repercussões nos membros inferiores e coluna. Dito isto, pode ser particularmente interessante para os clientes de faixa etária mais avançada, mas também para casos de pé diabético, entre outros casos.

Considero que a versatilidade de serviços numa farmácia pode constituir um fator decisivo na eleição de uma “farmácia habitual” por um cliente, e assim, investir numa variedade de especialidades de consulta pode ser muito vantajoso quer para a farmácia, quer para a melhoria da qualidade de vida dos seus utentes.



### **3.4. Ameaças (*Threats*)**

#### **3.4.1. Desmaterialização das receitas Médico-Veterinárias**

No início do presente ano entrou em vigor o Regulamento (UE) 2019/6, de 11 de dezembro de 2018, do Parlamento Europeu e Do Conselho <sup>[10]</sup>, relativo aos Medicamentos Veterinários e aplicado a todos os Estados Membros. O mesmo visa desmaterializar as receitas médico-veterinárias, com a criação de uma plataforma eletrónica destinada a Médicos Veterinários (MV) onde torna possível a prescrição eletrónica médico-veterinária (PEMV) otimizando o processo de prescrição, permitindo futuramente a emissão de receitas médico-veterinárias que sejam reconhecidas em todos os Estados Membros da União Europeia. Com esta plataforma é possível monitorizar continuamente a utilização de medicamentos em animais, particularmente em relação a agentes antimicrobianos, prevenindo o aumento das resistências aos antibióticos, contribuindo desta forma para a proteção da saúde do animal, do ambiente e da saúde pública.

Dito isto, os utentes têm vindo a ser informados sobre a nova legislação em vigor, tendo em vista que os mesmos antecipem a aquisição de uma PEMV junto do seu Médico Veterinário de modo que seja possível para a farmácia dispensar os medicamentos que nos solicitam. No entanto, os mesmos mostram-se bastante desagradados com a situação, argumentando que por vezes é difícil ter uma nova consulta com o MV, quer por questão de tempo e disponibilidade quer por questões financeiras. Os utentes demonstram a sua preocupação em conseguir ter uma PEMV por cada vez que necessitem de desparasitar o seu animal de estimação por exemplo, e discutem que inevitavelmente existirão mais problemas da saúde animal por tratar devido a esta imposição, o que poderá por sua vez trazer consequências. Cabe assim ao farmacêutico informar e explicar as razões e benefícios para a saúde de todos da entrada em vigor desta legislação, e assim antecipar algumas repercussões.

#### **3.4.2. Medicamentos Esgotados no Mercado**

Uma situação recorrente que se tem verificado por todo o país há já algum tempo tem sido a falta de alguns medicamentos nas farmácias, quer devido a ruturas de *stock* para um *rebranding* da marca, alterações nos rótulos ou cartonagem, esgotamento de matérias-primas que leva à diminuição drástica do fabrico, entre diversas razões. Isto provoca grande frustração pelos utentes, que se repercute no ambiente vivido na farmácia, uma vez que quase diariamente alguém solicitava a dispensa de um medicamento que se encontrava esgotado nos armazenistas naquele momento, impossibilitando a sua encomenda. O carácter crónico da toma de muitos destes medicamentos que têm faltado sem uma previsão de nova disponibilidade, origina grande preocupação quer pelos doentes, quer pelos farmacêuticos que, na busca por soluções

que amenizem as consequências da suspensão da terapia com ditos fármacos, unem esforços para garantir alternativas equivalentes e viáveis até uma nova reposição do medicamento esgotado. Estas soluções explicadas cuidadosamente aos doentes passam por, no caso de ser um medicamento de marca, uma eventual substituição pelo bioequivalente medicamento genérico, ou quando não existe essa opção terapêutica, o reencaminhamento para o médico para que este possa, avaliando cada situação individualmente, alterar a prescrição modificando a dosagem, o DCI, a marca ou outro se assim o entender, impedindo que o utente seja obrigado a suspender repentinamente a terapêutica e sofra com as consequências desse ato. No entanto, os utentes referem a dificuldade de marcar uma nova consulta com o médico, resultando isto num forte impacto negativo para toda a saúde pública.

### **3.4.3. Locais de Venda Alternativos de MNSRM**

Desde a implementação do Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto <sup>[11]</sup> pelo Ministério da Saúde, que visa legalizar a venda de MNSRM fora do âmbito das farmácias, que outros locais de venda ao público como parafarmácias, superfícies comerciais e plataformas online se têm vindo a tornar num mercado crescentemente competitivo. Dado que estas grandes superfícies efetuam por norma um grande volume de compras, é-lhes possível e rentável praticarem preços mais baixos, o que apresenta desde logo uma vantagem competitiva em relação às Farmácias Portuguesas. Isto incentiva um uso mais despreocupado e irracional de MNSRM, que não deixando de se tratar de medicamentos, devem ser tidas em consideração as respetivas indicações terapêuticas para o qual estão destinados, bem como os efeitos secundários e contraindicações que acarretam. São fatores que não são certamente considerados por estas superfícies de venda ao público uma vez que, sendo desprovidos de profissionais de saúde qualificados para tal, não me parece possível que possa ser realizado um aconselhamento com a devida qualidade e segurança que qualquer MNSRM deveria requerer, e assim é incentivada a prática da automedicação desregrada, com as repercussões às quais podemos assistir. Ao longo do meu estágio presenciei várias situações onde os clientes mostraram desagrado pelos preços praticados na farmácia em relação a outros estabelecimentos. Dito isto, considero que é importante dar a entender ao utente que apesar de por vezes esses locais de venda apresentarem de facto preços mais acessíveis, tais não são providos de profissionais de saúde com o conhecimento necessário para aconselhar o cliente de forma responsável e tendo em conta as necessidades de cada um, sem colocar em risco a sua saúde. Assim, considero que estas situações promovem a descredibilização do ato farmacêutico, resultando numa ameaça ao setor.

#### **4. Conclusões Finais**

Nos dias que correm, a intervenção do farmacêutico comunitário tem um papel cada vez mais relevante quer dentro do setor, quer para com toda população, acarretando níveis de exigência e responsabilidade crescentes.

Durante esta experiência de estágio, foi-me possível não apenas colocar em prática os meus conhecimentos técnico-científicos adquiridos durante o curso, como também contactar com diversas áreas sobre as quais pouco sabia, que culminou dotando-me de um amplo conhecimento que só poderia ter adquirido realizando esta experiência.

Sei que parte da minha evolução foi alcançada com a vertente de atendimento ao público, onde pude enfrentar alguns desafios e simultaneamente sair da minha zona de conforto. Posso dizer que o facto de contactar com algumas das dificuldades vividas diariamente pelos colegas da área, fez-me valorizar ainda mais a relevância da profissão para a Sociedade.

Entendo que o farmacêutico está na primeira linha da saúde, sendo a farmácia o espaço que por norma se encontra mais acessível à população, representa particular importância para a faixa etária mais idosa, que sempre visita a sua farmácia habitual quando surge um novo sintoma, uma nova dor, uma nova preocupação, muitas vezes em forma de combater a solidão vivida e trocar dois dedos de conversa entre sorrisos. Pode-se dizer que o farmacêutico simboliza a ligação entre a ciência e a população, e não pode deixar de ser valorizado pela Sociedade por tudo o que representa.

Assim, só tenho a agradecer a toda a equipa da Farmácia Isabel Folhas pelos valores e boa formação que me proporcionaram, preparando-me para o início de uma nova fase que enfrentarei com mais resiliência, respeito e humildade.

## LEGISLAÇÃO APLICADA A MEDICAMENTOS MANIPULADOS

### Âmbito de aplicação

#### Prescrição, Preparação e Dispensa

- Prescrição e a preparação de medicamentos manipulados.  
**Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de Abril**
- Boas práticas a observar na preparação de medicamentos manipulados em farmácia de oficina e hospitalar. Inclui normas relativas a pessoal, instalações e equipamentos, documentação, matérias-primas, materiais de embalagem, manipulação, controlo de qualidade e rotulagem.  
**Portaria n.º 594/2004, de 2 de Junho**

#### Substâncias Permitidas

- “Só podem ser utilizadas na preparação de um medicamento manipulado matérias-primas inscritas na Farmacopeia Portuguesa, nas farmacopeias de outros Estados Partes na Convenção Relativa à Elaboração de Uma Farmacopeia Europeia, na Farmacopeia Europeia ou na documentação científica compendial e desde que os medicamentos que as contenham não hajam sido objecto de qualquer decisão de suspensão ou revogação da respectiva autorização, adoptada por uma autoridade competente para o efeito.”  
**n.º 1 do artigo 6.º do Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de Abril**

#### Substâncias Proibidas

- “Por razões de protecção da saúde pública, o conselho de administração do INFARMED define, por deliberação, o conjunto de substâncias cuja utilização na preparação e prescrição de medicamentos manipulados não é permitida, bem como as condições dessa proibição.

Não podem ser prescritos medicamentos manipulados que incluam matérias primas diferentes das [permitidas] ou qualquer das matérias-primas proibidas (...).”

**n.ºs 2 e 3 do artigo 6.º do Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de Abril**

“Na prescrição e na preparação de medicamentos manipulados não podem ser utilizados:

a) Extractos de órgãos de animais;

b) Substâncias activas em dosagens superiores às autorizadas para medicamentos de uso humano, quando o medicamento manipulado se destina a uso sistémico;

c) Isoladamente ou em associação, as seguintes substâncias:

Anfepramona;

Benzefetamina;

Sec-butabarbital;

Clobenzorex;

Etilanfetamina;

Fenbutrazato;

Fencanfamina;

Flenfuramina e dexfenfluramina;

Fenproporex;

Flunitrazepam;

Fluoxetina;

Lefetamina;

Levotiroxina e seus similares terapêuticos;

Mefenorx;

Norpseudoefedrina;

d) Outras substâncias activas contidas em medicamentos que, por razões de saúde pública, sejam objecto de suspensão ou revogação da respectiva autorização de introdução no mercado.”

**Deliberação n.º 1498/2004, de 7 de Dezembro**

#### **Preparados Oficiais**

- Farmacopeias e Formulários reconhecidos pelo INFARMED  
**Deliberação n.º 1504/2004, de 7 de Dezembro.**

#### **Matérias-Primas**

- Condições exigidas aos fornecedores de matérias-primas para a preparação de medicamentos manipulados  
**Deliberação n.º 1497/2004, de 7 de Dezembro**

### Material obrigatório

- “Todas as farmácias devem estar apetrechadas com os utensílios de laboratório (...)

Em cada farmácia haverá igualmente a Farmacopeia Portuguesa, os seus suplementos (...)

**Artigo 66º do Decreto-Lei n.º 48547, de 27 de Agosto de 1968**

- Equipamento mínimo obrigatório:  
“Equipamento de laboratório:

Alcoómetro;	Papel indicador pH universal;
Almofarizes de vidro e de porcelana;	Pedra para a preparação de pomadas;
Balança de precisão sensível ao miligramma;	Pipetas graduadas de várias capacidades;
Banho de água termostaticado;	Provetas graduadas de várias capacidades;
Cápsulas de porcelana;	Tamises FPVII, com abertura de malha 180µm e 355µm (com fundo e tampa);
Copos de várias capacidades;	Termómetros (escala mínima até 100°C);
Espátulas metálicas e não metálicas;	Vidros de relógio.
Funis de vidro;	
Matrases de várias capacidades;	
Papel de filtro;	

**Equipamento de comunicação** – aparelho de telecópia ou outro meio de transmissão electrónica de dados que permita a recepção expedita de alertas de segurança e de qualidade enviados pelo INFARMED.”

**Deliberação n.º 1500/2004, 7 de Dezembro**

### Preço dos Medicamentos Manipulados

- O cálculo do preço de venda ao público dos medicamentos manipulados por parte das farmácias é efectuado com base no valor dos honorários da preparação, no valor das matérias-primas e no valor dos materiais de embalagem.

**Portaria n.º 769/2004, de 1 de Julho**

### **Comparticipação dos Medicamentos Manipulados**

- “(...) Os medicamentos manipulados participáveis constam de lista a aprovar anualmente por despacho do Ministro da Saúde, mediante proposta do conselho de administração do INFARMED, e são participados em 50% do seu preço(…)”

**Número 4 do Artigo 2º do Decreto-Lei n.º 118/92, de 25 de Junho, com a redacção introduzida pelo Decreto-Lei n.º 90/2004, de 20 de Abril**

- “(...) Até à aprovação da lista de medicamentos manipulados participados a que se refere o n.º 4 do artigo do Decreto-Lei n.º 118/92, de 25 de Junho, na redacção que lhe foi dada pelo Decreto-Lei n.º 90/2004, de 20 de Abril, mantêm-se participados em 50% os preparados oficiais incluídos na Farmacopeia Portuguesa ou no Formulário Galénico Nacional e as fórmulas magistrais que constam da lista de medicamentos manipulados participáveis.”

**Despacho n.º 4572/2005, de 14 de Fevereiro**

### **Manipulados e Estabelecimentos Hospitalares**

- “(...) mediante autorização prévia do conselho de administração do INFARMED, os estabelecimentos hospitalares poderão contratar a outras entidades a produção de preparados, para os efeitos do presente diploma equiparados a preparados oficiais, destinados exclusivamente a ser utilizados naqueles estabelecimentos, nas condições dos números seguintes.

Os produtos referidos no número anterior incluem, nomeadamente, fármacos, produtos químicos e preparações descritas em farmacopeias ou formulários, devendo constar do Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos e respectivas adendas aprovadas pelas comissões de farmácia e terapêutica hospitalares ou de uma lista especial elaborada pelo INFARMED, ouvidas as Comissões da Farmacopeia Portuguesa, do Formulário Hospitalar Nacional de Medicamentos e de Avaliação de Medicamentos.

A autorização prevista (...) apenas pode ser concedida desde que, cumulativamente:

- a) O serviço farmacêutico do hospital requerente não reúna as necessárias condições materiais para preparar o produto em causa;
- b) Não existam em Portugal medicamentos essencialmente similares aprovados com idêntica composição qualitativa e quantitativa em substâncias activas e forma farmacêutica ou, quando existam, estes não sejam comercializados;
- c) O produto se destine a resolver problemas clínicos comprovadamente sem terapêutica alternativa.

A autorização referida (...) apenas pode ser concedida para contratação junto de titulares de uma autorização de fabrico com vista à produção de lotes não industriais, desde que as respectivas instalações industriais estejam autorizadas para as formas farmacêuticas pretendidas.

No caso previsto no número anterior, o fabricante deverá cumprir as Boas Práticas a Observar na Preparação de Medicamentos Manipulados em Farmácia de Oficina e Hospitalar, em consonância com as normas estabelecidas no Guia para o Bom Fabrico de Medicamentos e demais normas aplicáveis ao fabrico de medicamentos.

O conselho de administração do INFARMED aprovará por deliberação os requisitos a que devem obedecer os pedidos de autorização a que se refere o n.º 2, bem como os documentos com que os mesmos devem ser instruídos.”

**Artigo 60.º do Decreto-Lei n.º 72/91, de 8 de Fevereiro, com as alterações que lhe foram introduzidas pelo Decreto-Lei n.º 90/2004, de 20 de Abril**

- Contratação pelos hospitais de preparados - equiparados a preparados officinais - destinados exclusivamente a serem utilizados naqueles estabelecimentos

**Deliberação n.º 1491/2004, de 7 de Dezembro**



**Circular n.º 0013-2022 de 13 de janeiro pela ANF:**  
visa atualizar o fator F para o cálculo do preço dos manipulados



Associação Nacional de Farmácias

**Circular n.º 0013-2022**

Lisboa, 13 de janeiro de 2022

**Assunto:** Legislação aplicável a medicamentos manipulados - Atualização do fator F para cálculo do preço dos manipulados

Exmo. Associado,

Nos termos da lei, o cálculo dos honorários de preparação de medicamentos manipulados tem por base o fator F, cujo valor é atualizado automática e anualmente, no início de cada ano, na proporção do crescimento do IPC (Índice de Preços no Consumidor), divulgado pelo INE (Instituto Nacional de Estatística) para o ano anterior àquele a que respeita (art. 2.º da Portaria n.º 769/2004, de 1 de julho).

Dada a importância de informar todos os Associados, promovendo uma uniformização dos honorários praticados, informa-se que o valor do fator F a aplicar, até nova divulgação por parte do INE do IPC para 2022, é de 5,11€.

O valor do fator F a aplicar, até divulgação por parte do INE do IPC para 2022, resulta do seguinte cálculo:

$$(4€ \times 1,0237 \times 1,0228 \times 1,0311 \times 1,0245 \times 1,0259 \times 0,9917 \times 1,014 \times 1,0365 \times 1,0277 \times 1,0027 \times 0,9972 \times 1,0049 \times 1,0061 \times 1,0137 \times 1,0099 \times 1,0034 \times 0,999 \times 1,0127) = 5,11€$$

Aproveitamos para relembrar que todos os Associados dispõem de uma folha de cálculo, ferramenta auxiliar para o cálculo do Preço de Venda ao Público do Medicamento Manipulado, disponível no ANFOnline, na área Serviços de Saúde > Serviços > Medicamentos Manipulados > Suporte Geral > Apoio Técnico.

Com os melhores cumprimentos,

A DIREÇÃO

Anexo:  
- Variação do IPC



Rua Marechal Saldanha, 1 · 1249-069 Lisboa  
Tel: 21 340 06 00 · Fax: 21 347 29 94  
email: [anf@anf.pt](mailto:anf@anf.pt) | [www.anf.pt](http://www.anf.pt)



Verificação


Ensaio efectuado	Especificação	Resultado		Rubrica do Operador
		Conforme	Não Conforme	
<b>1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS</b>				
1.1 Cor (verificar conformidade com a especificação)	Incolor	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	e
1.2 Aspecto (verificar conformidade com a especificação)	Límpido	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	e
<b>2 CONFORME COM A DEFINIÇÃO DA MONOGRAFIA DA FARMAC. PORT.</b>				
<b>3 QUANTIDADE</b>				
Tarar previamente o recipiente de dispensa e, em seguida, pesar com o respectivo conteúdo	10ml (± 5%)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	e
Supervisor: <i>[Assinatura]</i>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Aprovado</b>		<input type="checkbox"/> <b>Rejeitado</b> Data: 08/07/2022
<b>Embalagem</b>				
Embar a solução em frasco conta-gotas (FP IX)				
Capacidade do Recipiente: 30 ml				
<b>Material de Embalagem</b>	<b>Data de Aquisição ou nº da Factura</b>	<b>Origem</b>		
FRASCO CONTA-GOTAS	8206484131	PLURAL		
				Operador: <i>[Assinatura]</i>
<b>Nome, morada e telefone do doente</b>				
[Redacted]				
<b>Nome do médico prescriptor</b>				
[Redacted]				
<b>ANOTAÇÕES</b>				
[Empty space for notes]				
Rubrica da DT: <i>[Assinatura]</i>				Data: 08/07/2022




Cálculo do preço de venda									
Matérias-primas:									
Matérias-primas	Embalagem existente em armazém		Preço de aquisição de uma dada quantidade unitária (s/ IVA)		Quantidade a usar	Factor multiplicativo	Preço da matéria-prima utilizada na preparação		
	Quantidade adquirida	Preço de aquisição (s/ IVA)	Quantidade unitária	Preço					
Ácido bórico	100	1,83		0.018	X 0,4	X 2,5	=	0,02	
Álcool a 70º	250	3,04		0.012	X 8,22	X 2,2	=	0,22	
Água destilada	1000	0,97		0.001	X 1,78	X 2,2	=	0,01	
					X	X	=		
					X	X	=		
					X	X	=		
<b>Subtotal A</b>							€ 0,25		
HONORÁRIOS DE MANIPULAÇÃO:									
		Forma Farmacêutica	Quantidade	F (€)	Factor Multiplicativo	Valor			
Valor referente à quantidade base		solução	10ml	5,11	X 3	=	15,33		
Valor adicional					X	X	=		
<b>Subtotal B</b>							€ 15,33		
MATERIAL DE EMBALAGEM:									
Materiais de embalagem		Preço de aquisição (S/ IVA)		Quantidade	Factor Multiplicativo	Valor			
FRASCO CONTA-GOTAS		0,76		1	X 1.2	=	0,91		
					X 1.2	=			
					X 1.2	=			
<b>Subtotal C</b>							0,91		
PREÇO DE VENDA AO PÚBLICO DO MEDICAMENTO MANIPULADO:					<b>(A + B + C) x 1.3</b>		€ 21,44		
					<b>IVA</b>		€ 1,29		
					<b>D</b>		€ 22,73		
OUTROS CUSTOS INCORPORADOS:									
Rótulo (s)		Preço de Aquisição (C/ IVA)	Quantidade	Valor	Subtotais				
Dispositivos Auxiliares									
<b>Subtotal E</b>									
<b>PREÇO FINAL D + E</b>							€ 22,73		
Operador: <i>C</i>		Supervisor: <i>[assinatura]</i>			Rubrica da DT: <i>[assinatura]</i>				
							Data: 08/07/2022		

**PRAZO DE UTILIZAÇÃO E CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO:**

Condições de conservação: A solução é estável quando conservada em frasco de vidro âmbar bem fechado


Operador: 

Prazo de Utilização: 35 dias

Operador: 

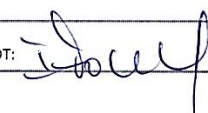
**Rotulagem**

1. Proceder à elaboração do rótulo de acordo com o modelo descrito de seguida.
2. Anexar a esta ficha de preparação uma cópia, rubricada e datada, do rótulo da embalagem dispensada.

<p>Médico Prescritor: _____</p>	
<p>FARMÁCIA ISABEL FOLHAS</p> <p>Direcção Técnica: Isabel Maria Fresco Costa Folhas R. Carolina Michãellis, 20 D - F - 3030-324 COIMBRA Telef. 239404543 Fax 239780829</p>	<p>Identificação do doente: _____</p>
<p>DENOMINAÇÃO DO MEDICAMENTO: Álcool 60° boricado à saturação</p>	
<p>100 ml de solução contém 4 g de ácido bórico</p>	<p>Data de Preparação: 08/07/2022</p>
<p>Quantidade dispensada: 10 ml</p>	<p>Posologia: 1 aplicação 2x/dia Prazo de utilização: 35 dias Conservar em embalagem bem fechada Manter fora do alcance das crianças Nº Lote: 009/22</p>
<p><b>USO EXTERNO</b></p>	<p>Operador: </p>
<p>Preço: € 22,73</p>	

Unidade	Kg	hg	dcg	g	dg	cg
FACTOR	1,3	1,6	1,9	2,2	2,5	2,8

Formas Farmacéuticas Semi-sólidas	Pomadas propriamente ditas, geles, pomadas obtidas por incorporação de substâncias activas em sistemas pré-preparados industrialmente.	Até 100 g - F x 3	Cada g adicional - F x 0,01
	Pastas	Até 100 g - F x 4,5	Cada g adicional - F x 0,01
	Crems	Até 100 g - F x 9	Cada g adicional - F x 0,015
Formas Farmacéuticas Líquidas não estéreis	Soluções, formas líquidas obtidas por incorporação de substâncias activas em sistemas pré preparados	Até 100 g / 100 ml - F x 3	Cada g / ml adicional - F x 0,005
	Xaropes	Até 100 g / 100 ml - F x 9	Cada g / ml adicional - F x 0,005
	Suspensões	Até 100 g / 100 ml - F x 4,5	Cada g / ml adicional - F x 0,007
	Emulsões	Até 100 g / 100 ml - F x 9	Cada g / ml adicional - F x 0,013
Formas Farmacéuticas Sólidas	Papéis medicamentosos	Até 10 unid. - F x 6	Cada papel adicional - F x 0,1
	Cápsulas	Até 10 unid. - F x 4,5	Cada papel adicional - F x 0,01
	Pós compostos	Até 100 g - F x 3	Cada g adicional - F x 0,003
	Granulados	Até 100 g - F x 4,5	Cada g adicional - F x 0,013
	Comprimidos	Até 10 cp. - F x 6	Cada cp. adicional - F x 0,1
	Supositórios e óvulos	Até 10 unid. - F x 6	Cada sup. / óv. adicional - F x 0,01
Formas farmacéuticas líquidas estéreis	Soluções estéreis	Até 100 g / 100 ml - F x 4,5	Cada g / ml adicional - F x 0,005
	Soluções injectáveis	Até 10 amp. - F x 6	Cada amp. adicional - F x 0,1
	Suspensões injectáveis	Até 10 amp. - F x 8,5	Cada amp. adicional - F x 0,14

Rubrica da DT: 

Data: 08/07/2022



FARMÁCIA  
ISABEL FOLHAS

FICHA DE PREPARAÇÃO

Medicamentos usados  
em Afecções  
Otorrinolaringológicas

A.	II.	1.
----	-----	----

<p>FARMÁCIA ISABEL FOLHAS</p> <p>Direcção Técnica: Isabel Maria Fresco Costa Folhas R. Carolina Michãellis, 20 D - F - 3030-324 COIMBRA Telef. 239404543 Fax 239780829</p>		<p>Médico Prescritor: [REDACTED]</p>	
<p>100 ml de solução contém 4 g de ácido bórico</p>		<p>Identificação do doente: [REDACTED]</p>	
<p>Quantidade dispensada: 10 ml</p>		<p>DENOMINAÇÃO DO MEDICAMENTO: Álcool 60° boricado à saturação</p>	
<p>Preço: € 22,73</p>		<p>Data de Preparação: 08/07/2022</p>	
<p><b>USO EXTERNO</b></p>		<p>Posologia: 1 aplicação 2x/dia</p>	
		<p>Prazo de utilização: 35 dias</p>	
		<p>Conservar em embalagem bem fechada</p>	
		<p>Manter fora do alcance das crianças</p>	
		<p>Nº Lote: 009/22</p>	
		<p>Operador: </p>	

FARMACIA ISABEL FOLHAS, unip. Lda.  
Dir. Técnica: Isabel Maria Fresco C. Folhas  
Cont. N.º 507 413 998  
Rua Carolina Michãellis, 20-D-F  
Tel. 239 40 45 43 - 239 78 08 29 - 3030-324 COIMBRA



08/07/2022

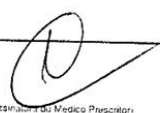


**PRESCRIÇÃO MANUAL DO MEDICAMENTO MANIPULADO  
E RESPECTIVA COMPARTICIPAÇÃO PELO SNS**

FARMÁCIA I.P.O. COIMBRA  
Dir. Técnica: Isilda  
Cont. Maria  
Rua Carolina  
Tel: 239 401 343 - Joam - 2030-324 COIMBRA

*Stolef*  
08/07/2022

Receita Médica Nº [REDACTED]

Utente: <span style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]</span> <span style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]</span> MM Telefone: <span style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]</span> R.C.: <span style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]</span> Entidade Responsável: SNS Nº. de Beneficiário:		
<span style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]</span>	Especialidade: ONCOLOGIA MÉDICA Telefone: 239402000	I.P.O.COIMBRA CEXT <span style="background-color: black; color: black;">[REDACTED]</span>
Rx DCI / nome, dosagem, forma farmacêutica, embalagem, posologia N.º Extensc Identificação Ótica		
1 solução alcoólica saturada de ácido bórico, 60 fsa, 10 ml, 60 fsa e 1 Uma mande o manipulado frasco conta gotas 10 cc (7987685), FSA Posologia: Duração Prolongada, 1 aplicação 2 vezes por dia		
2		
3		
4		
Validade: 30 dias Data : 2022-06-28		 (Assinatura do Médico Prescritor)

Processado por computador - Prescrição Eletrónica Médica, v2.4.0 - SNS/S EPE

FARMACIA ISABEL FOLHAS - COIMBRA  
Dir. Téc.: Drª Isabel Mª Fresco Costa Folhas  
Reg. C.R.C. CRC-Coimbra/ 10491



CAPITAL SOCIAL: 5.000,00 Euros  
Nº de Contribuinte: 507413989  
DOCUMENTO PARA FATURAÇÃO  
99x - R/L/S:7/1/90  
Rec.: 2011000060981810301  
Ben.:

[REDACTED]  
R03BYKINHdKpB - ATEND. - 4350896 (1354) 11-07-2022

Prod PVP Pref Qt Comp Utente PV4 Incentivo

[REDACTED]  
1) \*7987685\* - Solução alcoólica saturada de ácido b  
22,73 0,00 1 6,82 15,91 0,00 0,00

T: 22,73 1 6,82 15,91 0

Declaro que: Me foi dispensada 1 embalagem de medicamentos constantes na receita e prestados os conselhos sobre a sua utilização.

Ass. do Utente [REDACTED]

VG 11/07/2022



## CASOS CLÍNICOS

### Caso I

Um Senhor com cerca de 60 anos dirige-se à farmácia solicitando Imodium Rapid® para a diarreia que se iniciou no dia anterior, que diz provavelmente ser resultado de algo que ingeriu previamente. Refere que viu a publicidade do medicamento na televisão, mas questiona se existe algum produto que seja mais adequado para o seu caso. Prontamente questionei se o utente tinha febre, vômitos, dor abdominal ou presença de sangue ou pus nas fezes, ao que o Senhor me respondeu que não tinha, por enquanto, nenhum desses sintomas. Questionei ainda se teria que se deslocar para o trabalho ou eventos sociais nos seguintes dias, pelo que me respondeu que estaria por casa num ambiente calmo.

Com isto, expliquei que a diarreia é, em grande parte dos casos, um processo agudo autolimitado que melhora num curto prazo de dias com medidas não farmacológicas como uma elevada hidratação e ter bastante descanso, e ainda a inclusão de soluções de reposição de eletrólitos como Dioralyte® pó para solução oral sendo recomendada a toma de 1 a 2 saquetas após cada dejeção, cada uma dissolvida em 200 ml de água <sup>[12]</sup>. Pude ainda aconselhar a toma de UL-250® Cápsulas que tem na sua composição o probiótico *Saccharomyces boulardii* indicado no tratamento sintomático da diarreia aguda em crianças e adultos, auxiliando na reposição da microbiota intestinal perdida durante o processo diarreico. Recomendei a toma de 1 cápsula, 3 vezes por dia fora do horário das refeições e tomado com bebidas frias para não destruir os microrganismos com a ação do calor e ação mecânica dos alimentos <sup>[13]</sup>. Informei o utente que o medicamento antidiarreico solicitado previamente, no seu caso não faria tanto sentido, uma vez que, não tendo que se deslocar fora de casa e na ausência de outros sintomas, à partida com as medidas mencionadas anteriormente, a diarreia diminuiria nos seguintes dias. Alertei o utente para que se dirigisse ao médico se a diarreia persistisse por mais de 3 dias ou no surgimento de outros sintomas relevantes.

### Caso II

Uma Senhora de cerca de 40 anos dirige-se à farmácia com queixas de cansaço desde que contraiu COVID-19 no mês anterior. Refere maioritariamente cansaço a nível muscular e também a nível psicológico. Comenta que sempre foi desportista e que o cansaço a nível físico a tem prejudicado no regresso gradual aos seus treinos, o que a deixa desmotivada relacionando esse fator com a fadiga mental. Questionei se sofria de algum problema de saúde ou tomava alguma medicação ao que me respondeu que não.

Sugeri primeiramente a toma de um suplemento alimentar à base de magnésio como é o caso do Magnetril D® que, para além de dispor deste mineral que contribui para o bom funcionamento muscular, tem ainda Cálcio, Potássio, Vitamina B6 e Vitamina D que contribuem para a redução de sintomas de cansaço e fadiga melhorando a atividade muscular [14]. Para além disso não podia deixar de aconselhar um suplemento alimentar para auxiliar o sistema imunitário a recuperar após a infeção pelo coronavírus como é o caso do Win-Fit Imuno®, que contem na sua composição elementos como Zinco, Equinácea, Sabugueiro e Vitamina C que no seu conjunto contribuem para reforçar as defesas do organismo, sendo que o último elemento é recomendado precisamente em períodos de pós-infeção melhorando os sintomas de cansaço e fadiga [15]. Assim, expliquei à utente que a combinação destes elementos será bastante benéfica para a melhoria dos sintomas que descreve, quer físicos quer psicológicos, e indiquei a toma de 1 comprimido por dia de cada suplemento durante ou após uma refeição.

### **Caso III**

Uma mulher de cerca de 28 anos dirige-se à farmácia com queixas de cólicas abdominais intensas. Refere que tem Síndrome do Intestino Irritável e que pensa que o que despoletou este sintoma foi o stress que tem vivido diariamente devido a uma situação laboral. Pergunto se tem algum outro problema de saúde ao que me responde que não.

Aconselho a toma do Buscomint® cápsulas moles gastrorresistentes 3 vezes por dia com muito líquido e 30 minutos antes de uma refeição. Este MNSRM está indicado no alívio dos sintomas de dor abdominal, espasmos ligeiros do trato gastrointestinal e flatulência, especialmente em doentes com SII [16]. Abordei ainda que, na presença de desconforto gastrointestinal recorrente pode ser muito benéfico iniciar a toma de um probiótico como o Symbiosys Alflorex®, um suplemento alimentar que contém a estirpe *Bifidobacterium longum* 35624® que tem demonstrado em estudos clínicos contribuir para a redução de sintomas de SII. Aconselha-se a toma diária acompanhado com um copo de água durante pelo menos 30 dias [17]. Sensibilizei a doente para medidas não farmacológicas, nomeadamente na gestão do stress que pode funcionar como *trigger* dos sintomas de quem sofre com esta desordem gastrointestinal. Informei assim sobre algumas medidas que podem ajudar nesse fator, como a inclusão de uma rotina de exercício físico, a importância de ter um sono reparador, e ainda consultar um psicólogo ou psicoterapeuta para abordar o tópico [18].

## Caso IV

Um homem com cerca de 50 anos acompanhado pelo filho menor de 12 anos dirige-se à farmácia com queixas de comichão intensa após picadas de insetos em casa, com visível inchaço e vermelhidão em ambos, e pede algo tópico que lhes alivie o sintoma.

Sugeri o MNSRM Benaderma Calm® que contendo cloridrato de difenidramina, óxido de zinco e cânfora está indicado como antialérgico no alívio rápido de irritações da pele como urticária, alergias, prurido após picadas de insetos e queimaduras solares, e ainda tem uma ação local antipruriginosa, analgésica e antisséptica. Uma vez que pode ser utilizado a partir dos 2 anos de idade, ambos o pai e filho poderão aplicar este creme 3 a 4 vezes por dia <sup>[19]</sup>. Questionei ainda se utilizavam algum tipo de repelente de insetos em casa, de modo a minimizar o risco de novas picadas, ao qual me responderam que não utilizam nenhum produto. Assim, aconselhei a utilização de uma pulseira repelente para a criança como a da Chicco® que é perfumada com Citronela atuando contra os mosquitos, e referi que pode usá-la inclusivamente para dormir diminuindo o risco de picadas noturnas <sup>[20]</sup>. Indiquei ainda aplicar compressas frias ou gelo por curtos períodos de tempo no local das picadas para diminuir a temperatura e o inchaço como medida não farmacológica.

## Caso V

Um jovem com cerca de 18 anos dirige-se à farmácia após uma consulta do viajante no seu Centro de Saúde e refere que vai realizar uma viagem em contexto de uma experiência de voluntariado em Moçambique. Assim, refere que está bastante receoso e com algumas dúvidas sobre o que deve levar para si caso haja necessidade médica.

Prontamente cedi ao utente uma lista que a farmácia tem à disposição com vários produtos considerados essenciais de viagem. Primeiramente, aconselhei um antipirético e analgésico como paracetamol 500g e um anti-inflamatório como ibuprofeno 400 mg. Depois um antiemético como dimenidrinato 50 mg que pode ser útil em viagens mais atribuladas, e para as picadas de insetos aconselhei a utilização de um repelente biocida com 50% DEET (N,N-dietil-m-toluamida) como o Previpiq® Tropics em spray ou roll-on que oferecem uma proteção contra as espécies de mosquitos mais comuns de, em média, 9 e 12 horas respetivamente <sup>[21]</sup>. Ainda um anti-histamínico local para aplicar nas zonas das picadas como Fenegan® <sup>[22]</sup> e um anti-histamínico oral como o Telfast 180® <sup>[23]</sup> caso ocorra uma reação alérgica à picada. Ainda pode ser bastante útil ter presente um agente antimicrobiano em creme como o Fucidine® <sup>[24]</sup> em caso de ocorrer uma ferida e existir o risco de infeção. Para

além disso, sensibilizo o utente para levar consigo também um kit de primeiros socorros que contenha, entre outros, solução antisséptica, compressas, ligadura de gaze, fita adesiva, pensos rápidos, soro fisiológico e um termómetro. Por último, uma vez que se trata de um país com bastante exposição solar, é importante realçar a importância de utilizar com frequência proteção solar adequada e caso ocorra uma queimadura solar quer um *after sun* quer uma emulsão cutânea como Biafine®<sup>[25]</sup> são vantajosos para uma cicatrização da pele mais rápida.

## Referências Bibliográficas

- [1] INFARMED, I. P. - **Decreto-Lei n.º 307/2007 de 31 de agosto** [Acedido a 15 de junho de 2022]. Disponível na Internet: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/022-A\\_DL\\_307\\_2007\\_6ALT.pdf](https://www.infarmed.pt/documents/15786/1067254/022-A_DL_307_2007_6ALT.pdf)
- [2] DIÁRIO DA REPÚBLICA ELETRÓNICO - **Portaria n.º 1429/2007, de 02 de novembro** [Acedido a 28 de junho de 2022]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/1429-2007-629418>
- [3] DIÁRIO DA REPÚBLICA ELETRÓNICO - **Portaria 97/2018, de 9 de abril** [Acedido a 10 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/97-2018-115006162>
- [4] INFARMED, I. P. - **Deliberação n.º 139/CD/2010, de 21 de outubro** [Acedido a 10 de julho de 2022]. Disponível na Internet: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/139\\_CD\\_2010.pdf/4d614fa9-63e0-4220-ad81-d8689829be6a](https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/139_CD_2010.pdf/4d614fa9-63e0-4220-ad81-d8689829be6a)
- [5] INFARMED, I. P. - **Deliberação n.º 145/CD/2010, de 4 de novembro** [Acedido a 12 de julho de 2022]. Disponível na Internet: [https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Deliberação\\_145\\_CD\\_2010.pdf/ead66219-e91f-49db-a12a-5f60e2399a56](https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/Deliberação_145_CD_2010.pdf/ead66219-e91f-49db-a12a-5f60e2399a56)
- [6] DIÁRIO DA REPÚBLICA ELETRÓNICO - **Despacho n.º 4270-C/2020, de 7 de abril** [Acedido a 16 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/dre/detalhe/despacho/4270-c-2020-131246680>
- [7] INFARMED, I. P. - **Circular Normativa n.º 005/CD/550.20.001** [Acedido a 18 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/3464134/Orientações+sobre+acesso+de+proximidade+a+medicamentos+dispensados+em+regime+ambulatorio+de+farmacia+hospitalar+no+atual+contexto+de+pandemia+por+COVID-19/282314e4-941a-bae6-29cf-ce4994d3886a>
- [8] DIÁRIO DA REPÚBLICA ELETRÓNICO - **Decreto-Lei n.º 95/2004, de 22 de abril** [Acedido a 21 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/95-2004-223251>
- [9] DIÁRIO DA REPÚBLICA ELETRÓNICO - **Portaria n.º 594/2004, de 2 de junho** [Acedido a 21 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/dre/detalhe/portaria/594-2004-261875>
- [10] PARLAMENTO EUROPEU – **Regulamento (UE) n.º 2019/6 de 11 de dezembro de 2018**. Jornal Oficial da União Europeia (2019). [Acedido a 26 de julho de 2022]. Disponível na internet: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32019R0006&from=EN>
- [11] DIÁRIO DA REPÚBLICA ELETRÓNICO - **Decreto-Lei n.º 134/2005, de 16 de agosto** [Acedido a 26 de julho de 2022]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/dre/detalhe/decreto-lei/134-2005-243692>
- [12] KORANGI - Produtos Farmacêuticos, Lda.- **Resumo das Características do Medicamento - Dioralyte®**, pó para solução oral. [Acedido a 10 de agosto de

- 2022]. Disponível na internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
- [13] BIOCOCODEX Portugal - **Resumo das Características do Medicamento - UL-250® Cápsulas**. [Acedido a 12 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
- [14] VELVET MED - **Magnetril D®** [Acedido a 14 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://velvet-med.pt/produto/magnetril-d/>
- [15] AMPLIPHAR – Produtos Farmacêuticos, Lda. **Win-Fit® Imuno** [Acedido a 15 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://winfitimuno.pt>
- [16] SANOFI – Produtos Farmacêuticos, Lda. **Resumo das Características do Medicamento - Buscomint®** [Acedido a 15 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
- [17] BIOCOCODEX Portugal - **Symbiosys Alflorex®** [Acedido a 17 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://www.symbiosys.com/pt-pt/symbiosys-alflorex/>
- [18] Sugaya N, Shirotzuki K, Nakao M. **Cognitive behavioral treatment for irritable bowel syndrome: a recent literature review**. Biopsychosoc Med. 15.1 (2021) 23.
- [19] GENERIS FARMACÊUTICA, S.A. - **Resumo das Características do Medicamento - Benaderma Calm®** [Acedido a 19 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
- [20] CHICCO Portugal - **Pulseira Natural Perfumada®** [Acedido a 19 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://www.chicco.pt/puericultura/bem-estar-e-protecao/anti-mosquito.html>
- [21] Grupo MEDINFAR - **Previpiq® Tropics** [Acedido a 20 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://www.medinfar.pt/pt/produtos/repelentes/previpiq-tropics>
- [22] SANOFI - Produtos Farmacêuticos, Lda. **Resumo das Características do Medicamento - Fenegan®** [Acedido a 21 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
- [23] SANOFI - Produtos Farmacêuticos, Lda. **Resumo das Características do Medicamento - Telfast 180®** [Acedido a 21 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
- [24] LEO Farmacêuticos Lda - **Resumo das Características do Medicamento - Fucidine ® creme** [Acedido a 22 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>
- [25] JOHNSON & JOHNSON Limitada - **Resumo das Características do Medicamento - Biafine® emulsão cutânea** [Acedido a 22 de agosto de 2022]. Disponível na internet: <https://extranet.infarmed.pt/INFOMED-fo/detalhes-medicamento.xhtml>



## MONOGRAFIA



**Epigenetic – Brain – Gut Microbiota**

**Interactions in Irritable Bowel Syndrome: Novel Concepts  
in the Pathophysiology and Emerging Therapeutic Opportunities**

Sob a orientação do Professor Doutor João António Nave Laranjinha





## Abbreviation List

5-HT	Serotonin
ACE	Adverse Childhood Experiences
CBT	Cognitive Behavioural Therapy
CgA	Chromogranin A Cell
CLA	Conjugated Linoleic Acid
CNS	Central Nervous System
CRF	Corticotropin-Releasing Factor
DNA	Deoxyribonucleic acid
DNMT	DNA Methyltransferase
EALs	Early Adverse Life Events
ENS	Enteric Nervous System
FDA	Food And Drug Administration
FGID	Functional Gastrointestinal Disorder
FMT	Faecal Microbiota Transplantation
GI	Gastrointestinal
GR	Glucocorticoid Receptor
GSH	Glutathione
HAT	Acetyltransferase
HDAC	Histone Deacetylase
HPA	Hypothalamic-Pituitary-Adrenal
IBD	Inflammatory Bowel Disease
IBS	Irritable Bowel Syndrome
IBS-C	Constipation-Predominant IBS
IBS-D	Diarrhoea-Predominant IBS
IBS-M	Mixed Subtype IBS
IBS-U	Unclassified IBS
lncRNA	Long Noncoding RNA
miRNA	MicroRNA
ncRNA	Noncoding RNA
NSP	Nonstarch Polysaccharides
PD	Parkinson's disease
PEG	Polyethylene Glycol
PI-IBS	Post-Infectious IBS
PTMs	Posttranslational Modifications
REM	Rapid Eye Movement
RNA	Ribonucleic Acid
ROS	Reactive Oxygen Species
SCFA	Short chain fatty acids
SERT	Serotonin Reuptake Transporter
SNP	Single Nucleotide Polymorphisms
SSRIs	Selective Serotonin Reuptake Inhibitors
TCA <sub>s</sub>	Tricyclic Antidepressants



## RESUMO

A Síndrome do Intestino Irritável (SII) constitui uma das desordens gastrointestinais mais preocupantes atualmente devido à elevada incidência nos últimos anos, motivando a comunidade científica para o estudo e compreensão dos mecanismos moleculares e etiologia da doença. A SII é considerada uma doença multifatorial, motivo pelo qual tem sido um verdadeiro desafio compilar e integrar todo o conhecimento científico atualmente disponível.

Embora não haja ainda um tratamento eficaz da doença, novos fármacos têm vindo a ser estudados, e podem sem dúvida representar um grande avanço para a terapêutica. No entanto, é de realçar a extrema importância da educação da população em geral e dos pacientes em especial acerca das terapias não farmacológicas que englobam um conjunto de medidas essenciais com evidência na prevenção dos sintomas, os quais são responsáveis em grande parte pelo agravamento da qualidade de vida dos pacientes.

Um entendimento profundo da patofisiologia da SII, dos mecanismos moleculares subjacentes e dos fatores que contribuem para agravar sintomas, bem como uma abordagem terapêutica que inclua mudança de hábitos alimentares e estilo de vida, controlo dos níveis de stress, uso de medicação adequada, entre outros, sob a orientação de profissionais da área informados sobre os aspetos fisiopatológicos mais recentes do tema e empáticos com o paciente, deve ser uma prioridade para os investigadores e entidades de saúde, pois só nesta medida parece ser possível tratar cada doente de forma individualizada, com vista a garantir o sucesso de um tratamento sustentado no tempo.

Esta revisão pretende, portanto, discutir e integrar os avanços científicos que se têm alcançado na área recentemente, em ligação com potenciais estratégias terapêuticas, salientando, em particular, para além de estratégias terapêuticas clássicas, os avanços inovadores relacionados com a epigenética e a microbiota, imprescindíveis para garantir num futuro melhores terapias que melhorem a vida de quem sofre com a doença.

**Palavras-chave:** Síndrome do Intestino Irritável, epigenética, eixo cérebro-intestino, microbiota, barreira intestinal, distúrbios gastrointestinais, gestão de sintomas, mudanças no estilo de vida, dieta, probióticos

## **ABSTRACT**

Irritable Bowel Syndrome (IBS) has been one of the gastrointestinal disorders of most concern nowadays, due to the high incidence in recent years, motivating the scientific community to put efforts in the study and understanding of the underlying molecular mechanisms and the various factors that seem to contribute to the development of the pathology and worsening of symptoms. IBS is seen as a multifactorial disease, which is why it has been a real challenge to compile and filter all the information that comes to light.

In spite of absence of an effective treatment of the disease, new drugs have been studied that can undoubtedly represent a great advance into patients' lives. However, it is important to highlight the relevance of educating the population in general and patients in particular, about non-pharmacological therapies which encompass a set of measures with scientific evidence for the prevention of symptoms, which are largely responsible for the decline in quality of life.

A deep understanding of the pathophysiology of IBS, the underlying molecular mechanisms and the factors that seem to trigger symptoms, as well as a therapeutic approach that includes changes in eating habits and lifestyle, control of stress levels, use of appropriate medication, among others, under the guidance of professionals in the area who are updated on the last knowledge on subject and are empathetic with the patient, should be a priority for researchers and health entities, as it is only to this extent that it seems possible to treat each patient individually, thus guaranteeing the success of a sustained treatment over time.

In sum, this review intends to discuss and integrate the scientific advances that have been achieved in the area lately in connection with potential therapeutic approaches, emphasizing in particular, beyond classic therapeutic strategies, innovative therapeutic avenues related to epigenetics and microbiota, essential to ensure better therapies in the future that improve the lives of those who suffer from the disease.

**Keywords:** Irritable Bowel Syndrome, epigenetics, gut-brain axis, microbiota, gut barrier, gastrointestinal disorders, symptom management, lifestyle changes, diet, probiotics

## **1. Introduction**

Irritable Bowel Syndrome is currently considered a functional gastrointestinal disorder (FGID) but, a few decades ago, when the first cases were diagnosed, was dubbed Irritable Colon being considered a psychiatric disorder due to the high incidence of psychological problems in these patients. Over the years, in view of the data that was being revealed, it assumed other designations namely Spastic Colon with origin in a motor problem. Then it was associated with visceral hypersensitivity and later it was considered a syndrome induced by immune response in which an inflammatory response occurs and triggers the symptoms. Recently, two novel pathways emerged and became prominent, namely a) the intestinal microbiota and its impact along the brain-gut axis and b) genetic susceptibility and changes in genetic expression involving epigenetics. In view of these discoveries, IBS is currently considered not a pathology associated with a singular aetiology anymore, but to the set of all these factors discovered over the last few decades, culminating in what is considered today as a multifactorial origin disease. This turns research and filtering of outcomes much more challenging and raises doubts as to the interaction between all these sources, whether each one directly influences and increases susceptibility to the disease by itself, or whether a set of these factors is necessary simultaneously to do so, as well as whether there are still pathophysiological factors to be discovered, and how long it will take before we can talk about it objectively <sup>[1]</sup>.

For now, it remains for health professionals to work with the available knowledge and thus define an individualized therapy for each patient, considering their characteristics and symptoms at the moment. By properly informing the patient and taking into account the therapies that are currently available for which there are evidence of their efficacy and safety, the patients might be diagnosed and submitted to either pharmacological or non-pharmacological therapeutic measures, both of great relevance and usefulness that together can completely change the quality of life of a patient suffering from IBS.

## **2. Understanding IBS**

Irritable Bowel Syndrome is the most commonly diagnosed gastrointestinal (GI) disorder affecting at least 10 % of the global population according to the International Foundation for Functional Gastrointestinal Disorders <sup>[2]</sup>, and it represents more than 30% of

the reasons for gastroenterology appointments according to the same source. It is a chronic condition that affects the whole intestine, and not only the colon as thought before <sup>[3]</sup>.

It is most common in young adults and affects more women than men <sup>[4]</sup>, whereas females complain more of abdominal pain and symptoms related to constipation, in males diarrhoea-related symptoms seem to be the most prevalent. Although the reasons remain to be explored in detail, many studies have indicated that sex hormones are believed to contribute to these gender differences, amongst other factors <sup>[5]</sup>.

IBS is usually a lifelong condition, though symptoms tend to come and go for irregular periods of time. That causes considerable discomfort and daily disruption of patient's quality of life compared to the general population <sup>[6]</sup>, which seems to be related to the intensity of the symptoms and the presence of psychological disorders. However, the quality of life of these patients' improvement depends on the relief or disappearance of digestive discomfort <sup>[7]</sup>, which shows the relevance of getting an IBS diagnosis as early as possible.

Diagnosis is based on anamnesis but also on physical examination including laboratory blood and stool tests, imaging studies such as colonoscopies and x-rays are made to exclude other gut conditions such as inflammatory bowel disease (IBD), celiac disease or colon cancer <sup>[2]</sup>. The latest Rome IV Criteria (2016) to diagnose IBS include abdominal pain lasting at least once a week in the last 3 months associated with 2 or more of these factors: related to defecation; associated with a change in frequency of stool; associated with a change in form of stool <sup>[8]</sup>. These symptoms must have started at least 6 months prior to diagnosis. According to Bristol Stool Form Chart patients can be classified according to the consistency of stools, into diarrhoea-predominant (IBS-D), constipation-predominant (IBS-C), mixed subtype (IBS-M) with alternating episodes of both diarrhoea and constipation, or unclassified (IBS-U) <sup>[4]</sup>.

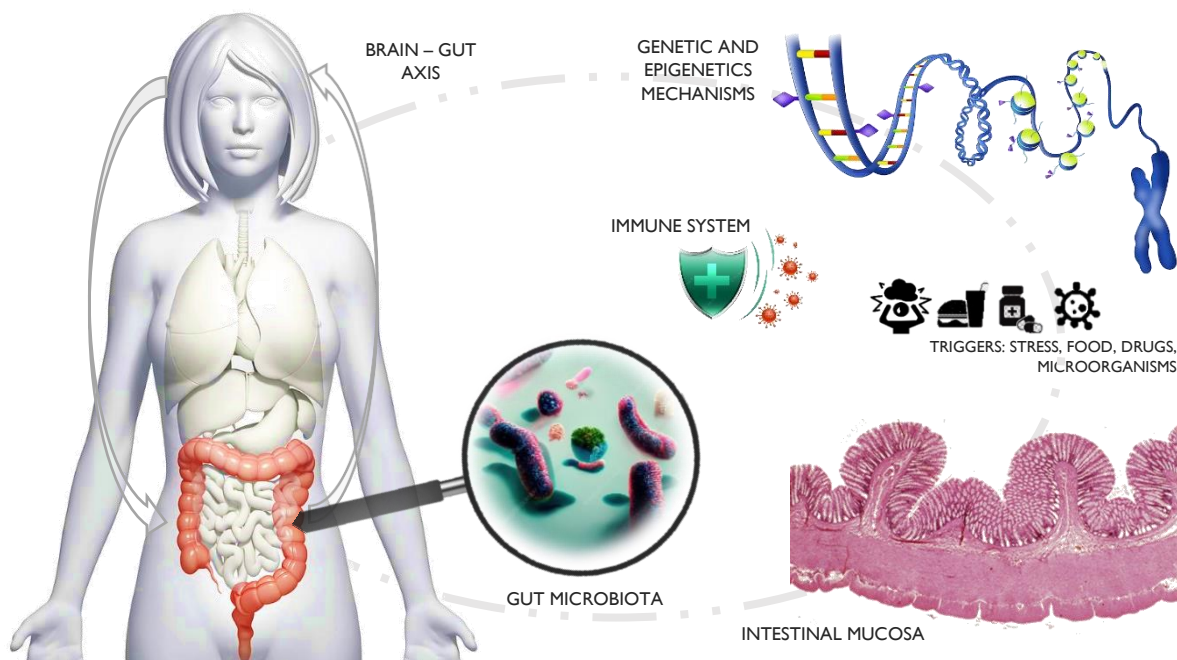
In IBS the muscular contraction of the bowel is abnormal, what leads to irregular intestinal mobility pattern. In some cases, the contractions may cause food to move too quickly through the intestines. As a result, gut walls do not have enough time to reabsorb most of the water from the ingested food, and this leads to watery stools and diarrhoea. In other cases, the contractions may cause food to move too slowly and as a result, the bowl reabsorbs too much water from the food which leads to hardened stools and constipation. Other symptoms in addition to altered bowel habits ranging from diarrhoea to constipation, may include abdominal pain and cramping, bloating, distension, flatulence and mucus in the stool. People with IBS are also likely to have psychiatric disorders especially major depression and anxiety and other extraintestinal symptoms associated with disorders such as fibromyalgia, chronic

pelvic pain, chronic fatigue syndrome, interstitial cystitis, or temporomandibular joint dysfunction [9].

Despite the precise causes of IBS still unclear, there are some factors to consider that seem to trigger the gut to contracts abnormally, and these may be stress, certain foods, medicines, presence of pathogens [2], and possibly hormones seem to have their influence since IBS symptoms may get worse in women during menstruation [5], what seem not to affect other people.

### 3. What is known about IBS Pathophysiology?

As a chronic and heterogeneous gastrointestinal disorder, IBS has multifactorial origins, namely genetic, epigenetic, psychosocial, physiological and environmental causes [10]. Thus, distinct possible mechanisms have already been identified, (Figure 1) which includes alterations in the bidirectional brain-gut axis system caused by psychological trauma, anxiety or stress; altered intestinal permeability after GI infection leading to immunity activation and low-grade inflammation; disturbances in gut microbiota with changes in characteristics and composition of certain species; and genetics and epigenetics modifications, as recent studies have identified specific mutations and gene expression alterations in IBS patients.



**Figure 1** | Summary of the Factors involved in the Pathophysiology of IBS

(Adapted from: <https://www.alamy.com> <https://www.sciencephoto.com> <https://sciencephotogallery.com>)



### 3.1 Brain-Gut Axis: Disease Influencers

IBS is mostly thought to be associated with problems in the communication system between gut and central nervous system (CNS) also known as gut-brain axis. This system not only ensures the proper function of digestive system but also adapts its activity to body's different physiological states. The brain-gut axis it's a functional and bidirectional axis between intestinal structures which includes the epithelium, neuroendocrine, immune and microbiota components, as well as its supraspinal, central and brain structures <sup>[11]</sup>.

Some extraintestinal symptoms such as anxiety and depression are very prevalent in patients with IBS <sup>[12]</sup>. Although this association is not yet fully understood, scientists link the syndrome with the later development of these mood disorders <sup>[11]</sup>. Thus, it is suggested that an imbalance in the gut may underlie brain abnormalities through the gut-brain axis. On the other hand, a study using a Psychophysiological Model showed that these psychiatric disorders such as depression may play a role in later GI symptoms related to IBS <sup>[13]</sup>. Therefore, treating a priori this brain-gut axis disequilibrium, could possibly prevent and even reverse both psychological and gastrointestinal dysfunctions <sup>[12]</sup>.

Also with the Biopsychosocial Model, Drossman et al. described how the relationship between psychosocial and physiological factors contribute to the expression of symptoms and development of gastrointestinal tract functional diseases such as IBS <sup>[14]</sup>. They explained that the compendium of factors, namely the individual's childhood experiences like behaviour and family relationships; psychosocial factors that can include chronic life stress caused by the death of a loved one, divorce processes or caused by other pathologies, experience of physical or sexual abuse, other traumas and also anxiety disorders, depression, phobias <sup>[15]</sup>; physiology aspects such as visceral hypersensitivity and abnormal motility, a compromised brain-gut axis system that influences the release of neurotransmitters and hormones that regulate, among others, the motor system, immune and inflammatory response, as well as the presence of a dysregulated intestinal microbiota can lead to central nervous dysregulation culminating with the appearance of symptoms and behaviours able of deeply affect patient's daily life and representing also a great impact on their social relationships <sup>[16]</sup>.

Early adverse life events (EALs) such as emotional abuse, domestic violence or other trauma experienced early in life seem to be positively correlated with severity of IBS <sup>[12]</sup>. Park et al tried to prove this association using the Adverse Childhood Experiences (ACE) questionnaire <sup>[17]</sup>. The scores obtained support the connection between prevalence of recurrent abdominal pain and IBS development when compared to healthy controls. The

negative impact of EALs in adults is noteworthy since, in addition to GI disorders such as IBS and extraintestinal symptoms like anxiety and mental distress, they have been associated with functional somatic disorders as fibromyalgia, chronic fatigue syndrome, diabetes, heart disease, stroke and coronary asthma <sup>[18]</sup>. The occurrence of both IBS and EALs lead to a major susceptibility to severe GI symptoms, apart from other psychosocial co-morbidities that can worsen the pain and poorer patients' health status <sup>[19]</sup>.

Imaging studies have shown that abuse is associated with greater activation of sensory pathways of CNS and lower activation of central pain inhibition pathways <sup>[20]</sup>. There were also changes in the salience control network, a set of brain regions that detect important stimuli directing the focus of our attention to a particular event <sup>[21]</sup>. Thus, the association between ACE scores and the prevalence of IBS makes sense, as there is evidence that psychological symptoms of anxiety and depression can be related to both.

According to several studies, different types of EALs such as emotional, physical and sexual aggression associated with the development of IBS disease through the brain-gut axis are more prevalent in females <sup>[22]</sup>. This could be explained by the fact that women are more likely to suffer this type of abuse throughout their lives than men, however, further studies with gender discrepancy must be performed to clarify this association <sup>[23]</sup>.

Bearing in mind that people with IBS have diminished downregulation feedback mechanisms in the emotional arousal network, a region of the cortex that modulates GI functions, but increased response to visceral pain, due to increased awareness of these stimuli, it is expected that these patients have affected the central pathways of sensory integration <sup>[24]</sup>. Imaging studies have noted a dysregulation process on the fornix and insular white matter leading to an abnormal visceral sensation <sup>[25]</sup>. Moreover, IBS patients showed a higher stress-induced neural activation response in the insula, midcingulate cortex, and ventrolateral prefrontal cortex regions related to the pain experience, seen through functional magnetic resonance imaging, supporting the hypothesis that there is an emotional modulation dysregulation to visceral stimuli, that could be related to the stress factor <sup>[26]</sup>. The extent of these changes is related to the duration of symptoms and severity of illness. In addition, the higher the abuse rate and history of past trauma, the greater the severity of IBS symptoms are predicted <sup>[19]</sup>.

Thereupon, the idea that IBS is just a functional disease with no apparent organic changes has been more than contravened with the emergence of new outcomes. In fact, data supports that there are long-term microstructural changes within the brain related to sensory pathways and corticothalamic modulation in patients suffering from visceral pain oftentimes

<sup>[27]</sup>. In addition to this brain dysregulation in response to certain stimuli, mucosal immune dysfunction and intestinal barrier changes were observed as well, possibly connected with alterations in neuroendocrine pathways such as mast cell degranulation and secretion of corticotropin-releasing factor (CRF) after developing acute gastroenteritis for example <sup>[28]</sup>. Considering that this hormone is a key mediator of stress response and of the subsequent increase of cortisol levels, it has been proposed that its response along with other inflammatory cytokines that contributes to myenteric neurons sensibilization causing visceral sensitivity and abdominal pain, may worsen GI symptoms <sup>[19]</sup>.

Gulf War veterans have been reported to develop various symptoms and medical conditions after returning home, including functional GI illnesses such as IBS and mental illnesses such as generalized anxiety disorder, depression, and substance abuse. It was found enough evidence to associate their development with the War deployment, which could be interpreted by the level of abuse and trauma experienced there <sup>[29]</sup>.

Hence, it can be hypothesized that the stress generated by these factors can increase the anterior midcingulate activation related to the pain threshold decrease, culminating in central and visceral hypersensitization causing the painful sensation <sup>[19]</sup>. Overall, it can be considered that there is significant dysregulation both in the CNS and enteric nervous system (ENS) in patients suffering from IBS. Therefore, it is reasonable to propose that alterations in the gut-brain axis may be part of disease pathophysiology, along with other factors <sup>[12]</sup>.

### **3.2 Gut Microbiota: a Human Ecosystem**

Humans have trillions of microbes living symbiotically in their bodies playing an important role in wellness and illness <sup>[30]</sup>. In a healthy body, the entire population of microorganisms colonizing particular locations, called microbiota, establish a symbiotic relationship with human body cells. At the same time, they coexist with some pathogenic microorganisms that are potentially harmful. However, once it gets a disturbance on that balance, whether brought by infectious illnesses, certain foods, prolonged use of antibiotics or by invasion of pathogens, it may result in an imbalance in the intestinal flora whose alteration in the quantity and distribution of bacteria leads to dysbiosis, which is part of the aetiology of several pathologies, including intestinal diseases <sup>[31]</sup>.

Similarly, the microbiome, which is the gene compilation of the overall bacteria harboured by the body, it contains about a hundred times more genetic material than the human genome <sup>[30]</sup>. It can be called a supporting organ owing to the many benefits that offer

to the host, taking part in nutrients and drug metabolism, maintenance of structural integrity of the intestinal epithelium, protection against pathogens and immunomodulation <sup>[32]</sup>.

The gut bacteria are able to synthesize certain vitamins and amino acids such as vitamin K and complex B vitamins including B12 that benefit the human host <sup>[33]</sup>. Furthermore, they can produce antimicrobial proteins such as cathelicidins and C-type lectins, among other mechanisms, acting on the disruption of membrane surfaces of pathogens and commensals <sup>[32]</sup>. Another example of this antimicrobial activity is through lactic acid production by *Lactobacillus* sp., which permeabilizes gram-negative bacteria leading to their outer membrane wreckage <sup>[34]</sup>. These microscopic organisms flourish all over our skin, our mouth, nose, gut, and other mucosal surfaces. Along with this, more and more the GI tract microbiota has drawn the most attention from researchers in order to study its connection with various aspects of growth and development <sup>[35]</sup>, as well as its relationship with health and disease since it is well known nowadays that a healthy gut flora is highly responsible and connected with the host whole health <sup>[32]</sup>.

The human gastrointestinal tract exhibits one of the largest body surface areas and as it serves as an interface between the host, antigens and environmental factors, it represents an enormous threat to gut integrity <sup>[36]</sup>. In humans the gut microbiota is composed of microorganisms from the 3 domains: bacteria, archaea and eukarya, with the bacterial phyla Bacteroidetes and Firmicutes representing the most populous <sup>[30]</sup>.

Microbiota density and composition vary in accordance with its anatomical region in the gastrointestinal tract since it's a reflection of the physiological properties in each area, and it is influenced by nutritional, chemical and immunological gradients along the tract <sup>[30]</sup>. Starting with the esophagus and the stomach, both have a low concentration of bacteria due to the low pH, usually less than 3. However, and being a good example of the influence of drugs on our microbiota, with the frequent use and abuse of proton pump inhibitors drugs, so common nowadays, it may trigger a proliferation of *Helicobacter pylori*, and among others, the potentially pathogenic *Escherichia coli*. In the duodenum, the concentration of bacteria remains at low levels due to the bactericidal action of bile, and in some cases of fasting there is even a light decrease of local proliferation. In contrast, in the ileum, the concentration of bacteria rises and the genera Lactobacilli and Bifidobacteria are the most prevalent ones. Finally, the large intestine is where it is seen the largest microbial population potentiated by neutral to slightly acidic pH and slow flow rates <sup>[35]</sup>. Given this scenario, it is possible to understand that our intestinal microbiota is not homogeneous at all, but despite this variability and considering

factors such as age, lifestyle, ethnicity, and eating habits, it is recognized as being normal and physiological for a healthy individual.

Each person has a particular flora that develops in early years but changes along lifespan according to individual “exposome”. Still inside the mother's womb and specially after birth, each individual begins to be colonized by microorganisms with which it comes into contact <sup>[37]</sup> <sup>[38]</sup>. Thus, the intestinal microbiota of each baby will depend, since the first moment, on the species harboured by the mother <sup>[39]</sup>. Minutes after a baby is born by natural delivery, its microbiota will resemble the microbiota present in the mother's vagina with a predominance of *Lactobacillus* spp., while in a caesarean section the baby will have a microbiota similar to that found in human skin with a high percentage of *Staphylococcus* spp. and facultative anaerobes as *Clostridium* spp. <sup>[40]</sup> <sup>[41]</sup>. Whether the mother breastfeeds or not and if it is directly from the breast also have an influence, since researchers found out higher levels of *Bifidobacterium* spp. in breast-fed infants' microbiota than in formula-fed infants <sup>[42, 39]</sup>. From the first months through the introduction of table foods, until a complete adult diet, there are significant changes in the composition of the intestinal microbiota. As the baby begins to receive a complete adult diet, the microbiome genes associated with vitamin biosynthesis and polysaccharide digestion become strengthened, allowing the child to have increasingly complete digestion of the meal <sup>[43]</sup>. Everything else the baby is exposed to during the first few years of life, including environmental factors and the type of diet, may play a crucial role in defining their future gut flora, which at around one year of age resembles that of an adult <sup>[39]</sup>.

The microbiota characterization has initially relied on canonical microbiology techniques, including structural and biochemical analysis. However, more recently, the use of 16S rRNA sequencing data and genomic analysis has permitted to characterize in more detail the bacterial population and, on basis of this technology, gut microbiota can greatly vary among healthy adult individuals, but, within each person, its composition tends to remain stable for decades, demonstrated by single nucleotide polymorphisms (SNP) variation patterns in metagenomics studies. Interestingly, aging is associated with changes in the microbiota. In elderly subjects there is a decrease of beneficial species such as *Bifidobacteria* sp. and *Lactobacilli* sp., predominant in infants, and an increase in facultative anaerobic species namely *Firmicutes* sp. and *Clostridium difficile* spp. predisposing to colitis development, particularly associated with antibiotic treatment.

Despite of microbiota resilience, some variations can have serious implications for intestinal and extra-intestinal disorders. Dysbiosis is present when these variations are unfavorable, and it may be at the origin or as a consequence of illnesses <sup>[30]</sup>. Some changes can

represent an opportunity for a better adaptation to a new context, although, chronic stimulation can be stressful enough to initiate a disruptive process in the human gut ecosystem [10].

As mentioned before, IBS is one of the most common gastrointestinal disorders and, therefore, it is not a surprise that microbiota influence on it has been broadly explored [10]. Comparing IBS patients with healthy controls it has been observed a significant reduction in the concentration of aerobic bacteria such as *Lactobacillus* [44]. Also, IBS patients seem to be enriched in Proteobacteria (*Enterobacteriaceae* spp.) and some Firmicutes families (*Veillonella*, *Streptococci*, and *Ruminococcus* spp.) but reduced in Actinobacteria population (*Bifidobacteria* and *Collinsella* spp.), Bacteroidetes and some Firmicutes families (*Lactobacilli* and *Faecalibacterium* spp.) compared to controls, what increases the Firmicutes/Bacteroidetes ratio [10, 45].

The above mentioned studies on the composition of microbiota between IBS patients and normal healthy populations have profound consequences on our understanding of IBS prevention and control. That is, the big loss of microbial richness points to the notion that many of microbiota health-promoting pathways are compromised, namely in amino acid synthesis and in inflammatory response, as well as in the integrity of cellular junctions, suggesting vulnerability of the epithelial barrier functions that could explain part of IBS symptoms [46].

A further point worth addressing in the context of this work is that different animal species, namely carnivores, herbivores and omnivores, have in their constitution different microbiomes, related to each one type of diet [47]. Therefore, a close interaction between diet characteristics, genes and the associated microbiota can be established. For instance in diseases such as obesity, the role of the gut microbiota is of utmost importance, since decreased levels of Bacteroidetes and increased levels of Firmicutes were found in genetically obese mice when compared to their lean counterparts [48]. Thus, depending on the phenotype, it may have different abundances of the main bacteria divisions that inhabit intestinal flora [31]. In another study with obese individuals [49] it was found that either in a fat-restricted or in a carbohydrate-restricted low-calorie diet over several weeks, the abundance of Bacteroidetes increases and Firmicutes decreases, moving from a microbiota pattern associated with obese state to patterns of community bacteria associated with a “lean” microbiota.

These studies highlight the notion that modulating the patient’s microbiota may be consider a therapeutic option either to promote weight loss in overweight individuals or to promote weight gain in undernourished people [31].

### 3.3 Immune Activation and Intestinal Inflammation: Silent Enemies

The intestinal mucosa represents an extremely large barrier, encompassing several mechanisms, each one with an essential function on health maintenance and organism homeostasis. Along this barrier there is a mucus layer containing antimicrobial proteins and IgA, T cells, macrophages, mastocytes and dendritic cells, among other immune system cells, able to protect the host from invasion by pathogens, through distinct mechanisms such as phagocytosis and T cell-mediated responses.<sup>[50]</sup> Among the various benefits the commensal relationship between the intestinal microbiota and the host presents, its role in the epithelial cell turnover and in mucosa modulation, apart of the protection against the invasion of pathogens and in the maintenance of the epithelial barrier integrity are some of them<sup>[51]</sup>.

Thus, it can be endorsed this intestinal barrier has selective permeability, allowing the absorption of nutrients, but limiting the penetration of microorganisms<sup>[52]</sup>. Along with this, it is eminently relevant that in order to this barrier to function properly, prevails a good relationship between the beneficial bacteria and the immune system cells present in the mucosa<sup>[30]</sup>. However, due to several factors that will be mentioned below, the functional permeability might fail, breaking the intestinal barrier and exposing the host to external agents, be they microorganisms, toxins, peptides or other substances contained in the ingested food<sup>[52]</sup>. Therefore, at these rupture points<sup>[52]</sup> it can occur an abnormal immune response by the immune system cells in the submucosa to the antigens in the intestinal lumen that try to invade the epithelial barrier. In case this epithelium is not restored in a short period, the immune response may persist over time, developing immunoinflammation, which could explain the extensive reaction to certain stimuli such as the ingestion of food and drugs by some patients with IBS and IBD, who demonstrate to have chronic inflammation markers, without being identified a reason for this to happen<sup>[30]</sup>. It is known that even a low-grade inflammation could change permeability and sensitize visceral afferent neurons, open onto pain and visceral sensation as well as gut motility alterations<sup>[23]</sup>.

In patients with IBS, sensory nerve endings in the bowel are highly sensitive and easily activated, producing the sensation of pain. This is known as visceral hypersensitivity, and it is connected with the consequent motor dysfunction of the affected digestive tract. Thus, these patients perceive as painful physiological events such as eating, the presence of gases, distension or intestinal contractions typical of the migrating motor complex, stimuli that are well tolerated by healthy people<sup>[53]</sup>. The genesis of visceral hypersensitivity is not yet clarified, nevertheless, some factors seem to be interrelated, including inflammation, psychosocial and

environmental stress, or post-injury sensitivity. Although this sensitivity was previously thought to be limited to the bowel, many IBS patients often experience pain in other parts of the body, suggesting the involvement of central hyperalgesia mechanisms <sup>[53]</sup>. These extraintestinal symptoms can include cutaneous hyperalgesia as is with fibromyalgia, where chronic generalized somatic pain manifests <sup>[54]</sup>. In fact, it has been found that patients with IBS show a gradient of hyperalgesia in response to nociceptive stimuli in somatic tissues, which suggests an overlap of visceral and somatic nociceptive pain processes, resulting in viscerosomatic convergence in the gut, which causes an increase in the intensity of sensations and a reduced threshold for visceral pain <sup>[53]</sup>.

Being IBS a functional disorder means that the bowel does not function properly and although it doesn't appear to exist any structural damage, a low-grade inflammation has been already described especially after episodes of infectious enteritis, autoimmune colitis or in response to an allergen. In fact, the onset of IBS-related symptoms following exposure to acute gastroenteritis has been reported by patients <sup>[55]</sup>. It was noticed that these patients are more likely to have IBS-D than other patients with IBS unrelated to infection <sup>[56]</sup>. This may be caused by the fact that patients suffering from this IBS phenotype may have increased intestinal permeability since it was also found in some mucosal biopsies a low-grade inflammation, which did not occur in IBS-C patients <sup>[53]</sup>. In addition, the severity of some IBS symptoms has also been shown to be negatively associated with a microbial signature distinct from that found in individuals without IBS <sup>[10]</sup>.

In view of the above studies that collectively led to the notion of post-infectious IBS (PI-IBS), the current pathophysiology framework suggests an association of increased intestinal permeability and persistent intestinal inflammation with an increased expression of proinflammatory cytokines, among other factors that may contribute as well <sup>[57]</sup>. Therefore, increased levels of T lymphocytes, enteroendocrine cells (EC) and calprotectin-positive macrophages were found in intestinal biopsies of patients after infection with *Campylobacter jejuni*, possibly related to an inflammation process and mucosal damage <sup>[58]</sup>. Also, intestinal permeability was evaluated, and the results revealed a high lactulose/mannitol ratio, suggesting that changes in these parameters can persist for more than 1 year after an acute infection, and that it may be related to the development of PI-IBS <sup>[58]</sup>. In another study, high levels of interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) were found in rectal biopsies of patients with PI-IBS after infectious enteritis as compared with patients who suffered this infection but did not develop PI-IBS <sup>[59]</sup>. Another group later observed similarly elevated levels of IL-1 $\beta$  in patients with PI-IBS who had *Shigella* infection compared to patients with IBS unrelated to a previous infection <sup>[60]</sup>. These



cytokines play a noticeable role in the inflammatory response, having a pro-inflammatory action involved in the induction and maintenance of pain in chronic disease states, namely multiple sclerosis, rheumatoid arthritis and IBD <sup>[61]</sup>.

There is growing evidence supporting a genetic susceptibility component in the pathophysiology of PI-IBS. Four candidate gene variants were identified in TLR9, CDH1 and IL6, encoding for, respectively, a pattern recognition receptor, a tight junction protein and a cytokine, all gene products that have a function in the epithelial cell barrier and in the innate immune response to pathogen invasion. Thus, aberrant or dysregulated gene sequence or expression may be related to decreased mucosal barrier functions, turning it more fragile and susceptible to exposure to intestinal lumen substances, leading to an overactivation of the mucosal immune system and consequently to low-grade inflammation. However, further studies are needed to confirm these potential gene variants association with the susceptibility to develop PI-IBS <sup>[62]</sup>.

Finally, considering determined that the risk of developing IBS increases up to 6 fold after an enteric infection and remains elevated until about 2-3 years after infection, it is crucial to keep on investigating these interactions so that not only a better understanding of IBS pathophysiology variability can be achieved but new tools can be developed to prevent and managed this condition <sup>[63]</sup>.

### **3.4. From Genetic to Epigenetics: the Science of Unexpected Change**

Genetic studies have identified IBS gene clusters in family history, suggesting that genetic factors or a shared household environmental exposure play an appreciable role in the disorder process <sup>[64]</sup>. It has been described that monozygotic twins show greater disease concordance than dizygotic twins, and given that the former shares all their genetic material, the same can be concluded about the influence of genetics on IBS <sup>[65]</sup>.

Serotonin (5-HT) is an important neurotransmitter in the CNS involved in pathways that include mood and mental state of humans and is a prime example of genetic influence on the pathophysiology of IBS. In fact, 5-HT is also present in the ENS mediating signals in the gastrointestinal tract, thus impacting on motility and gut physiology. Hence, it was hypothesized that genetic alterations in serotonergic pathways might be related to IBS pathophysiology <sup>[66]</sup>. Both release and reuptake of this neurotransmitter are crucial to maintaining a dynamic balance underlying their actions. That said, the serotonin reuptake transporter (SERT) present in the mucous membrane of enterocytes is essential to internalize

5-HT from the interstitial space to the cellular environment, where it is metabolized, decreasing its concentration outside where its action in gut signals transmission is executed. Thus, the higher the number of SERTs expressed in the cell membranes, the lower the concentration of extracellular 5-HT, and the opposite also succeeds <sup>[67]</sup>. It has been then verified that molecular defects in these transporters leaving them inactivated, or that a smaller amount of SERT on the surface of the enterocytes lead to lower reuptake of 5-HT, leaving a large concentration free to exert its effects at the secretion, vasodilation and GI peristalsis, as well as in vagal and nociceptive reflexes, which may be related to altered intestinal motility, changes in stool consistency and bowel pain sensation in patients with IBS <sup>[68]</sup>.

Along these lines, it is believed that an alteration in SERT expression may be responsible for an imbalance in the transmission and signalling pathways of 5-HT in the gut. For instance it was found in a study that a genetic polymorphism in the promoter region of the “solute carrier family 6 member 4 gene” (SLC6A4) involved in the expression and function of SERT may be related to the development of IBS <sup>[69]</sup>. As is the case of the “5-HT-transporter-gene-linked polymorphic region” (5-HTTLPR), where there are a variable number of tandem repeats (VNTR) and functional single nucleotide polymorphisms (SNPs), regions that are variable among humans and subjected to mutations occurrence <sup>[70]</sup>. Another study identified rare “sucrase-isomaltase” (SI) pathogenic variants in a group of patients who exhibited “congenital sucrase-isomaltase deficiency” (CSID), that may have worsened their GI symptoms, due to the lack of digestion and accumulation of this type of carbohydrate <sup>[71]</sup>.

Other evidence has emerged linking the involvement of missense mutations in the SCN5A gene that encodes for the alpha unit of the voltage-gated sodium channel (Nav1.5) with functional disorders such as IBS <sup>[72]</sup>. These membrane proteins initially related to several inherited arrhythmia syndromes, are also present in the human gastrointestinal tract smooth muscle, being associated with abdominal pain, the main IBS symptom <sup>[12]</sup>. This mutation can lead to the loss of function of voltage-gated sodium channels and a genome-wide association study estimated it can be found in at least 2% of IBS patients. It was also concluded that this alteration is found in a higher proportion of individuals with IBS-C rather than IBS-D <sup>[73]</sup>.

In addition to genetic-driven dysfunctions of 5-HT metabolism in IBS, the relationship between single nucleotide polymorphisms in genes encoding for corticotropin-releasing hormone (CRH) receptors 1 and 2 and some symptoms of IBS was also studied. The relevance of this observations become clear when considering that CRH is associated with the regulation and initiation of the body's response to stress, by activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. Furthermore, it also stimulates sacral parasympathetic outflow and

intestinal motility, implying that dysregulations in the levels of this hormone can lead to GI motility oscillations, thus contributing to symptoms exacerbation <sup>[74]</sup>.

Despite several studies pointing to the role of genetics, namely mutations in some specific genes as part of the aetiology of IBS, these associations still need to be clarified and studied deeply. In this regard, it is extremely important to note that research in the last few years allowed us to better understand the influence of environment on gene function via reversible modifications of the chromatin and DNA nucleotides that regulate gene expression without altering the genetic sequence. These are called epigenetic modifications.

The epigenetic modifications happen all the time and can be passed on to offspring through cell divisions. Epigenetics is a “game-changer” concept in the understanding of health and disease and is already providing promising results related to several chronic diseases including cancer, cognitive dysfunction, autoimmune, neurobehavioral diseases, and also gastrointestinal disorders as IBS and IBD <sup>[75]</sup>.

Epigenetic modifications are catalysed by several enzymes that can be categorized into 1) “writers” which are responsible for introducing chemical modifications on DNA nucleotides and histones, 2) “erasers” do the opposite removing those chemical tags and making the modifications reversible and 3) “readers” which are the proteins exhibiting specialized domains that identify and interpret those modifications and that ultimately lead to increased or decreased expression of the gene <sup>[76]</sup>. If epigenetics focuses on the processes that regulate gene expression, epigenomics refers to the study of epigenome, the set of the modifications in the chromatin and DNA, turning genes on or off.

Two of the best known epigenetic modifications are the acetylation of histones and the methylation of DNA bases. Histone acetylation usually leads to a more open conformation and it is known that a more open chromatin leans to be functional by expressed genes whilst tightly folded chromatin tends to be shut down by unexpressed genes <sup>[77]</sup>. On the other hand, methylation of DNA bases has been associated with a decreased expression of the methylated genes. In a genome-wide study with IBS patients, DNA methylation mechanism was explored, studying the links between gene expression and stress-related mechanisms, which is thought to be one of the major triggers of IBS symptoms <sup>[78]</sup>.

DNA methylation is catalysed by a family of enzymes called DNA methyltransferases (DNMTs) (“writers”) and the opposite action is performed by DNA demethylases (“erasers”). It involves the addition of a methyl group to position five of the nitrogenous base cytosine, and the product of this reaction is referred to as being the most common mutagenic base in the mammalian genome <sup>[79]</sup>. This chemical process is used by cells in early development to

differentiate which gene copy is inherited from the father and which gene copy is inherited from the mother, a phenomenon that is known as imprinting. DNA methylation plays a vital role in staging the monoallelic expression of chromosomes during cell maturation, but its deregulation can lead to abnormalities and cancer progression <sup>[79]</sup>.

Potential epigenetic markers and their pathways were identified and suggested to play a role in the disorder manifestation <sup>[78]</sup>. Epigenetic marks occur naturally and might be motivated by diet, metabolism, and environmental factors. Whereas many of the modifications contribute to homeostasis, certain drivers, including pollution and chemical agents such as heavy metals, tobacco smoke, radioactivity, microorganisms, stress, and adverse childhood experiences (ACEs), drugs and the diet itself might trigger serious health issues, opening the way to illnesses development <sup>[80, 75]</sup>.

In this regard, genome-wide studies exploring the methylome of IBS patients as compared with healthy controls <sup>[78]</sup>. It was evidenced a hyper-methylation in the promoter region of glutathione-S-transferase mu 5 (GSTM5) gene which was associated with epigenetic silencing and decreased gene expression. These GSTM5 are phase II detoxification enzymes enrolled in nutrients and xenobiotics metabolism and protection of the cell against the environment and oxidative stress. Since these enzymes catalyse the conjugation of glutathione (GSH) to a variety of compounds, if its expression decreases, GSH does not contribute to protection against xenobiotic stress, potentially leading to disease. It was concluded that there was a higher degree of methylation in IBS-C and IBS-M, rather than in IBS-D patients <sup>[78]</sup>.

A further epigenetic modification related to IBS involves the tubulin polymerization promoting protein (TPPP) gene, a brain protein related to tubulin polymerization and microtubule package. These proteins are fulfilled with Lewy bodies, which are also present in Parkinson's disease (PD) <sup>[78]</sup>. It is thought that IBS patients are more likely to develop PD but although these studies are interesting and important for the pathophysiology understanding of both diseases, more data is needed to confirm it <sup>[81] [82]</sup>. It was also found out that methylation of subcommissural organ (SCO) Spondin (SSPO) was higher in IBS patients than in IBS controls. These are glycoproteins mostly expressed during CNS development and are essentially regulated by 5-HT system. A study reported downregulation of SCO-spondin biosynthesis by 5-HT through cerebrospinal fluid. As seen before, 5-HT is thought to be associated with IBS pathophysiology as well as with depression condition. Thus, methylation of CpG sites in SSPO genes has been correlated with IBS patients manifesting depression, assessed by using HAD scores <sup>[78]</sup>.

From the therapeutic viewpoint, it is of note that recent studies have proposed this epigenetic mechanism as a potential therapeutic target, either in IBS or in other pathologies. This is because epigenetic changes mediated by exposure to environmental adversity are suggested to be related to long-term and possibly multi-generational behavioural development [83]. Social and early life stress and traumatic experiences seem to be related with later susceptibility to develop mental and functional disorders through stress interference with HPA axis as well as epigenetic marks performed early in life [84].

Apart of DNA methylation, a further well-known epigenetic modification is the acetylation of lysine residues in histones, the main proteins involved in chromatin architecture. Histone tails acetylation is one of the most important histone posttranslational modifications (PTMs), and it is related to transcriptional activation. These are catalysed by histone acetyltransferases (HATs), which are the writers, and the opposite reactions are catalysed by a group of histone deacetylases (HDACs), the erasers [85]. This acetylation mechanism occurs in specific lysine, serine, and arginine residues on the random coil amino-terminal tails amino-terminal tail of these histones [77]. At this point, the chromatin decondense (becomes more “open”) on these spots, turning more accessible the DNA binding sites to the transcription machinery and, therefore, facilitating switching the genes. Once catalysed by deacetylases the chromatin condenses again and it assumes the heterochromatin conformation where the DNA is no longer so accessible to bind, which impacts gene expression during cell division and differentiation [85].

The relation between amygdala and its visceral and emotional regulation has been the subject of epigenetic studies [86] [87]. A group illustrated the effects of histone acetylation using a model of ELS-induced rats, studying its influence on emotional regulation and anxiety-like behaviours, as well as its role in visceral hypersensitivity in IBS patients, related to long term effects. Through Western blot studies it was possible to show that the presence of acetylation in residue 9 of histone 3 (acH3k9) in the amygdala was more prevalent in ELS rats than in controls, being associated with visceral pain escalation. Also decrease of HDAC1 and HDAC2 expressions has been associated to greater histone acetylation in ELS rats subjected to neonatal colorectal dilatation CRD stimulation, allowing synaptic plasticity-related protein expression such as atypical protein kinases (aPKC) including protein kinase M $\zeta$  (PKM $\zeta$ ) to occur in the central amygdala (CeA), being associated with visceral pain regulation [86].

Additional experiments in neonate rat pups described a reduction of histone deacetylase (HDAC) 3 interaction with the  $\alpha$ 1C-subunit promoter region of Cav1.2b (L-type) channels ( $\alpha$ 1C1b) related to smooth muscle contractility, what seems to lead to a higher H3K9

acetylation in promoter's core region in adult life. Treatment with vasoactive intestinal peptide (VIP) have proven to reverse this situation and transcription has increased, since CREB-binding protein (CBP) has been shown to swift with HDAC3 in the promoter region, successively leading to H3K9 hyperacetylation. Thus, this group could conclude that an inflammation process in early life can upregulates VIP mRNA and modulates  $\alpha$ IC1b expression causing colon musculature dysfunction later in adult rats <sup>[88]</sup>. These results seem to be in accordance with the relationship between early life stress experiences in neonatal rats and its nociceptive stimulation inducing inappropriate HDAC expressions in amygdala and spinal cord. This phenomena is involved in augmentation of visceral hypersensitivity and anxiety-like behaviours in ELS rats. Thus, it is reasonable to speculate that histone acetylation and deacetylation epigenetic mechanisms play a fundamental role in several stress-related symptoms that may lead to later chronic comorbidities, including IBS <sup>[86]</sup>.

Another type of epigenetic marks whose studies have been shown to be related with pain disorders such as fibromyalgia and rheumatic diseases, IBS, interstitial cystitis, and psoriasis, are the microRNAs (miRNAs). These are short mature double-stranded non-coding RNA (ncRNA) molecules, that are cut by endonucleases called Dicer originating single guide strands and that regulate gene expression. Once incorporated onto the RNA-induced silencing complex (RISC), these RNA guide strands bind to its target mRNA sequence which leads to RNA degradation, or bind incompletely leading to inhibition of RNA translation, where both cases drive to gene expression inhibition. Only few years ago it was found that by regulating Dicer expression through its knockdown, modifying body's response to pain because of miRNAs reduction, it would be possible to decrease pain nociception. Studying more closely miRNAs functional effects in their corresponding target genes is extremely important to deeper unravel many emerging pathologies and so suggest more specific therapeutic options for each <sup>[89]</sup>.

Experiments using wild-type mice shown that downregulation of miRNA219 in the spinal cord caused nociceptive response to pain, while an overexpression of it reversed pain hypersensitivity <sup>[90]</sup>. The same seems to happen with other miRNAs as is the case of this group <sup>[91]</sup> that concluded miRNA124a expression was downregulated in the spinal cord causing hypersensitivity in mouses after peripheral inflammatory stimulation, what seemed to be counteracted when its overexpression occurs. Later in a neuropathic pain model performed in rats, it was demonstrated that both miRNA124 and miRNA146a can attenuate neuropathic pain expression reversing allodynia in a morphine-induced persistent sensitization model in male rats <sup>[92]</sup>. MiRNA103 expression in a spinal cord injury model was also reduced, which

induced up-regulation of the voltage-dependent comprising L-type calcium channel subunit  $\alpha 1C$  (Cav1.2LTC), that is related to neuropathic pain. This group tested intrathecal injections of a miRNA103 inhibitor, leading to hypersensitivity to stimuli in naïve rats, whereas miRNA103 overexpression seemed to inhibit Cav1.2LTC expression allowing to reduce nociceptive response to pain close to basal levels <sup>[93]</sup>.

Overall, these studies support that the presence of different miRNAs exert a negative impact on gene expression reducing spinal neural sensitization. This notion, in the context of pain related disorders, including IBS, represent standout keys to understand the way epigenetic mechanisms are capable of modulate nociceptive responses, opening possibilities to new targets findings and potential therapies <sup>[89]</sup>.

A further class of non-coding RNA that aren't translated into proteins but are involved in the regulation of gene expression regulation via interacting with other RNAs such as mRNA and tRNA are the long ncRNA (lncRNA). These appear to function in a similar way to transcription factors, as they interact with chromatin-modifying complexes at target sites to regulate transcription and translation depending on the specific enzymes that are present and were previously recruited to those complexes <sup>[85]</sup>.

GREHLOS, a lncRNA that regulates motilin expression, a peptide responsible for stimulating GI motility, has been seen to be downregulated in IBS patients compared to controls in a colonic mucosal transcriptome study using microarray analysis <sup>[94]</sup>. Also, X inactivate-specific transcript (XIST), another example of lncRNA has recently shown to be upregulated and associated with SERT downregulation leading to visceral hypersensitivity in an IBS-D mouse model. The mechanism suggested is that XIST has a role in DNMT1, DNMT3A, and DNMT3B recruitment decreasing expression level of SERT promoter methylation <sup>[95]</sup>.

An example of epigenetic modifications with impact on IBS via lncRNA is the lncRNA HI9. It was observed that downregulation of lncRNA HI9 led to alterations in aquaporin 1 (AQP1) and 3 (AQP3) expression, being associated with the later occurrence of IBS-D through epithelial barrier dysfunction <sup>[96]</sup>. Actually, previous studies tried to establish an association between intestinal permeability and IBS-D development. Apparently, patients suffering from this condition have an increased permeability of intestinal mucosa that might be connected with aquaporins 1, 3 and 8 downregulation <sup>[97]</sup>. These water/glycerol protein channels are expressed in the gastrointestinal tract and make part of the basolateral membrane composition regulating water flow and small solutes transition into and out of cells. Specifically, AQP3 knockdown might be associated with diarrhoea symptoms, since lower levels of this aquaporin

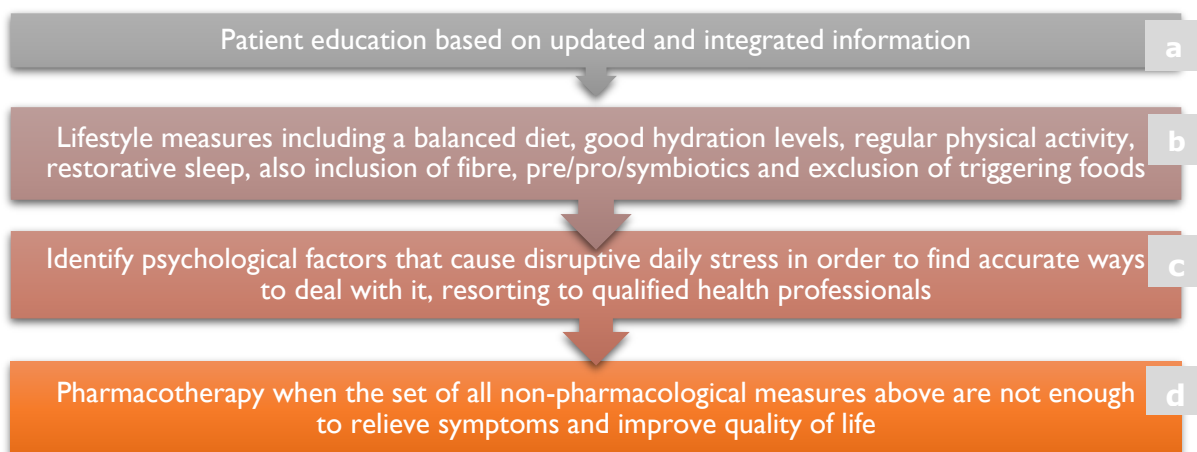
may open the tight junction complex possibly damaging the intestinal barrier integrity causing its impairment and consecutively those symptoms <sup>[98]</sup>.

Finally, having discussed a role for epigenetic changes in the pathophysiology of IBS, it is noteworthy to consider that the same way that genetic defects might impact on subsequent generations, the transgenerational epigenetic inheritance of epigenetic markers from one organism to the next affecting the traits of offspring without altering the primary structure of DNA, allows us to better understand the overall impact of genes and gene-environmental interactions in disease <sup>[99] [85]</sup>. A caution note need to be introduced to refer that it is still a matter of discussion the amount of epigenetic information that is inherited through the germline <sup>[100]</sup>, what demonstrates the priority of deciphering epigenetic regulation mechanisms.

#### 4. Managing IBS

It is pivotal for clinicians, pharmacists, psychologists, and other health professionals to have a general understanding of the disease management scheme, that can and should be explained to patients suffering from IBS, as well as, if possible, to loved ones and people closest to them who also end up being involved in the consequences that vastly condition their quality of life. The general population may also benefit from this information (compiled in [Table I](#)), not only by increasing their knowledge as well as improving their empathy towards these patients, opening the way to create better conditions and solutions capable of improving people' daily lives. It is important to inform the patient as soon as possible that IBS has no cure, however, through a set of non-pharmacological measures, combined with drug therapy when necessary, it is possible to manage the symptoms very well and live with quality <sup>[23]</sup>.

**Table I** | IBS Symptom Management





#### a. Patient Education

It is important to emphasize the importance of health professionals, including pharmacists, to convey updated knowledge to the patient, distilling the integrated knowledge from several fields in the management of the disease. Emphasize it is not a life-threatening disease, however it has no cure, as it is chronic but a benign disorder. Thus, with an appropriate management of symptoms it is completely possible to live a normal life. For this, it is necessary to promote patient education, especially regarding the factors that may trigger symptoms, so that they can be avoided and treated whenever possible. Although there are still no specific biological markers that allow a direct and differential diagnosis for this condition, with a detailed medical history, an accurate signs and symptoms interpretation using tools such as the Rome Criteria and Bristol Scale, a precise physical examination and an attempt to understand the main concerns of each patient regarding their condition, it is completely possible to establish a diagnosis and, consequently a real treatment that best suits each individual that suffers with IBS <sup>[101]</sup>. Therefore, considering the complexity of the aetiology of the disease, as discussed on previous chapters, it is extremely important that clinicians and other health professionals are well updated about the pathophysiology of the disease, the factors that can trigger symptoms, and the most viable and currently available treatment lines in order to transmit information to the patient in a simple and unambiguous way <sup>[102]</sup>.

#### b. Lifestyle Changes

Ensure good daily hydration is essential for the various functions of the body, especially regarding intestinal health. Thus, having a high liquid volume intake daily seems to be one of the essential points that contribute to symptoms improvement, especially in constipation and slow intestinal transit situations <sup>[103]</sup>.

The impact of diet on IBS has also been subject of several studies recently, testing its relationship with the control of GI symptoms. As discussed previously, over time diet influences the gut microbiota that, in turn, is directly related to the maintenance of the immune system and protection against pathogens. It can thus be hypothesized that diet may play a role in the pathogenesis of numerous infections and gastrointestinal disorders <sup>[30]</sup>. Despite the little evidence that relates the consumption of specific foods with the development of IBS, some patients have or are more susceptible to developing non-specific food intolerances that may be associated with the GI symptoms experienced. Following this line, efforts have been made

to identify diet elements related to these symptoms, in order to handle their integration or not into patients' daily diet, with the aim of improving their quality of life.

It has been found that a large proportion of patients with IBS associate the intake of foods containing lactose and gluten with the worsening of GI symptoms <sup>[104]</sup>. As for lactose, it is known that part of the population has a deficiency in the lactase enzyme, which hinders the hydrolysis of lactose and subsequent absorption, moving to the colon where it is fermented by the local bacteria, releasing, among others, gases that contribute to increased abdominal distention. However, compared to control groups, it was not possible to recognize that a sensitivity or intolerance to lactose is in the course of this intestinal discomfort <sup>[105]</sup>. It is therefore suggested that not lactose in particular, but other components of milk such as casein proteins may be involved in the mechanism. Nevertheless, a reduction in the intake of dairy products can be tested and recommended in some patients, with supervision of trained health professionals. <sup>[104]</sup>

Gluten appears to worsen GI symptoms in patients with concomitant IBS and gluten-related disorders, which have been shown to be quite common in the population. For this, a differential diagnosis must be performed in order to differentiate between disorder types, whether they are wheat allergy, celiac disease, or non-celiac gluten sensitivity (NCGS). The latter does not have clear markers so a diagnosis of exclusion must be executed, by observing the body's reaction to withdrawal and subsequent reintroduction of foods containing gluten <sup>[106]</sup>. Some authors prefer the term “non-celiac wheat sensitivity” since it seems that not only gluten, but other components present in wheat, such as fructans naturally present in high FODMAP foods, can cause the associated symptomatology. Thus, the prevalence of this disorder is estimated to be higher than that of celiac disease, which leads to growing concerns. <sup>[107]</sup>. That said, it was not possible to link gluten intake with exacerbation of symptoms characteristic of IBS per se. Thus, without sufficiently robust evidence and a clear diagnosis of the presence of these intolerances, it is not recommended to exclude either lactose or gluten from the diet, as there is a subsequent risk of triggering nutritional deficiencies in the diet, which can lead to serious health implications.. Therefore, more rigorous and clear studies need to be carried out in this area <sup>[103]</sup>.

The dietary restriction of high FODMAP (fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides, and polyols) foods has been widely practiced lately as it has already shown some positive results in clinical trials with IBS patients who have been on a low FODMAP diet. <sup>[108]</sup>. These highly fermentable carbohydrates are used as a substrate by colonic bacteria, releasing gases and short chain fatty acids (SCFAs) that can lead to a hyper expansion of the

intestinal wall causing the sensation of bloating and abdominal discomfort. However, due to difficulties in differentiating and controlling placebo groups in clinical studies, some limitations are associated with this diet performance. This is in part because patients with this pathology are quite fragile, not only physically due to the exuberance of symptoms, but also psychologically. Thus, as it is understood, the restriction of these elements in the diet, at least, includes several classes of food, namely all that contains high levels of fructose, lactose, fructans, galactans and sugar alcohols. This can be quite complex to manage on a day-to-day basis and it can represent a source of stress for a patient with exacerbated symptoms, thereby it should always and in any case be accompanied by a suitable health professional, who are able to make the necessary substitutions in the patient's diet in order to avoid nutritional deficiencies that could be carried out after this food restriction for a long period <sup>[109]</sup>.

The influence of fibre seems to positively impact the composition of colonic microbiota. It has been shown that a diet high in non-digestible carbohydrates such as non-starch polysaccharides and resistant starch resulted in a more diverse and reproducible intestinal flora <sup>[110]</sup>. These fibres are considered natural prebiotics since, resisting to digestion and not being absorbed in the small intestine, once they reach the large intestine, the local bacteria will digest it using their digestive enzymes, acting as a substrate for the production of SCFAs that, beyond the production of gases such as methane and carbon dioxide by fermentation reaction, are involved in several functions in the host metabolism, namely energy production via the metabolism of fatty acids, glucose and cholesterol. SCFAs, which are mostly acetate, propionate, and butyrate, may have a widespread biological impact and several studies have associated its presence with 1) anti-inflammatory, antimicrobial, and antitumorigenic activities, 2) changes in the integrity of the intestinal mucosal barrier, 3) induction of reactive oxygen species (ROS), 4) inhibition of HDACs regulating gene expression, among many others that surely remain to be discovered. Further, SCFAs have been connected with autoimmune, metabolic and neurological diseases, and also certain cancers and bowel disorders since clinical studies have pointed its benefits in IBD and antibiotic-associated diarrhoea <sup>[111]</sup>. That said, despite the innumerable benefits that prebiotics consumption seems to assume in the diet of patients with IBS, they must be introduced suddenly, up to a tolerable amount without producing associated symptoms, since the fermentation of these species in the colon leads to gases release, which can initially increase the flatulence and bloating. However, with its continuous use this tolerance tends to increase without producing side effects. Consumption of non-water-soluble fibre is recommended for patients with IBS-D, but not in IBS-C as their consumption may cause flatulence and worsen symptoms of constipation. For the latter, the

consumption of water-soluble fibre is recommended together with a high daily intake of water, having an effect in modulating stool form in the bowels, with few known adverse effects associated <sup>[103]</sup>. These fermentable polysaccharides such as inulin, gums, pectins and fructooligosaccharides can be found in foods like onion, leeks, asparagus, artichokes, bananas, wheat bran, oats and some type of beans <sup>[112]</sup>.

On the other hand, probiotics are live active bacteria that promote several health benefits to the body when consumed and can be found either in food or dietary supplements. They have been increasingly investigated and detailed due to their ability to re-establish normal intestinal flora after use of antibiotics for example, or in situations of stress to the body like after exposure to pathogens, reducing the severity of the related diarrhoea. There are two main factors for an appropriate choice of probiotic that must be taken into consideration by medical care professionals, namely, specific strain of probiotics and the type of disease. This because the efficacy of one probiotic should not be extrapolated to another one even within the same species or strain, given that probiotics can behave differently on each person, taking into account its characteristics, the type and stage of the disease, among other factors. <sup>[113]</sup>

Reviews and meta-analyses tried to identify treatment patterns using probiotic strains, alone or compiling different types, and the reported outcomes seem to demonstrate efficacy. For instance, Lewis et al. (2020) performed a randomized, double-blind, placebo-controlled study in IBS individuals for 8 weeks, using *Lactobacillus paracasei* Ha-196 and *Bifidobacterium longum* R0175 as treatment, and concluded that both species improved the quality of patients' social lives, according to questionnaires scores, accompanied by significantly greater bowel habits and stool consistency either in IBS-D and IBS-C individuals <sup>[114]</sup>. Martoni et al. (2020) used *Lactobacillus acidophilus* DDS-1 and *Bifidobacterium lactis* UABla-12 for 6 weeks of treatment, and described greater stool consistency, abdominal pain amelioration and decreased stress levels in patients <sup>[115]</sup>. Also Skrzydło-Radomańska et al. (2021) in a trial for 8 weeks used a multi-strain probiotic preparation, which demonstrated patients' quality of life improvement and lower severity of abdominal pain symptoms <sup>[116]</sup>. Hence, these preparations could emerge among the field of microbiota-manipulation-based therapies as novel medicinal approaches, less prone to side effects, an important factor when considering their prolonged use.

Apart of supplementation pills, probiotics can be found also in fermented foods like kefir, yogurt and some type of cheese, pickled vegetables, tempeh, kombucha, kimchi, natto, miso, and sauerkraut. It has been found benefits from consuming this type of food once recent

studies have been trying to elucidate their influence on gut microbiome and immune system status modulation <sup>[117]</sup>. Taylor, Bryn C et al. (2020) found that small compositional differences in gut microbiota structure may occur based on the dietary option of eating probiotic-rich fermented foods. Metabolomics analysis highlighted shifts in lipid metabolism related to consumption of fermented plants. Specifically, the main difference noted in this study between consumers and non-consumers of this type of food was the abundance of conjugated linoleic acid (CLA) in the consumer group, which seems to have beneficial effects on the body, since it is often used as nutritional supplement <sup>[118]</sup>. Plus, Wastyk and colleagues (2021) in a study involving seven hundred individuals to evaluate the effects of a fermented-food diet on the microbiome diversity comparing with a high-fibre diet for a period of seventeen weeks, showed that a diet high in probiotics including dairy fermented products, fermented vegetables, and non-alcoholic beverages, lead to decreased inflammation markers and improved intestinal flora diversity to levels that remained stable over time. This suggests there were possibly a remodelling in gut microbiome along time and not in the course of momentary ingestion of these products <sup>[119]</sup>.

Lastly, it is nowadays possible to combine prebiotics with probiotics in order to potentiate health effects in the host compared to using these individually. These are called symbiotics and they can be synergistic, where prebiotics serves as a substrate for the probiotics administered together; or complementary, by influencing the microbiota already existing in the host <sup>[120]</sup>. According to this strategy, the use of some specific symbiotic preparations for IBS treatment has shown positive results in IBS symptoms, including improvement in bowel habits in an 8-week trial (Min et al., 2012); decrease in abdominal pain, discomfort and diarrhoea in a 12-week trial (Rogha et al., 2014); decrease bloating and fatigue symptoms and stool patterns improvement in an 8-week clinical trial (Lee et al., 2019), among many others. These studies bring satisfactory and encouraging results to patients suffering from the pathology of IBS <sup>[120]</sup>.

Physical exercise has been identified as one of the most important adjustable variable in human health, whose health benefits range from metabolic diseases to aging and cognitive performance. The IBS is not an exception. Physical activity allows bowels to move more often, promoting an increased intestinal transit that ameliorate the symptom of constipation. According to American College of Gastroenterology (2018) maintaining an exercise routine is a key for either physical, cognitive, and psychosocial health <sup>[121]</sup>. A five-year follow-up study demonstrated that physical activity was associated with long term positive effects on IBS symptoms like better stool consistency, less flatulence and decreased on colonic transit time,

and also improvements in other disease-related conditions such as chronic fatigue, depression and anxiety, improving patients' quality of life, measured by the Irritable Bowel Syndrome Quality of Life Questionnaire (IBSQOL) <sup>[122]</sup>. Another group concluded that mild physical activity allows the clearance of intestinal gas loads which improve abdominal swelling <sup>[123]</sup>. Also, a randomized clinical trial has shown that the inclusion of a structured exercise intervention was related to an improvement in the overall symptoms of IBS compared with sedentary subjects, possibly associated with its anti-inflammatory and antioxidative effects <sup>[124]</sup>.

More recently, the possible association between the practice of regular physical exercise and the composition of the human intestinal microbiota has been discussed. As described above, the microbiota seems to be one of the factors involved in the pathology of IBS, like so it could be hypothesized that changes induced by physical exercise in the microbiome and gut microbiota could translate into bowel habits alterations and other symptomatology related. <sup>[125]</sup> <sup>[126]</sup>. Thus, physical exercise is a variable that must be considered as part of the IBS treatment management <sup>[122]</sup>.

Sleep disruption appears to have an influence on disorders such as IBS, since poor sleep quality and quantity of sleep have been associated with exacerbation of GI symptoms <sup>[127]</sup> <sup>[128]</sup>. Another study reported that patients with IBS have a higher prevalence of having sleep disturbances, showing a decrease in the rapid eye movement (REM) sleep, longer time spent falling asleep, higher sleep fragmentation with more nocturnal awakenings, more daytime sleepiness, which consequently affects patients' quality of life <sup>[129]</sup> <sup>[130]</sup>. Short sleep duration has been also related to gut dysbiosis mediated by HPA axis, allowing the overgrowth of specific bacteria which consequently can induce fatigue symptom <sup>[131]</sup>. With this, it is presumable that adopting sleep hygiene measures as soon as possible in patients, can, at its own pace, have a positive impact on the symptoms experienced.

Therefore, to better understand these relationships, more rigorous study designs are needed, using larger samples, distinguishing among age groups, including different types of exercise and level of training, taking into account others lifestyle factors such as different diets, sleep time and circadian rhythm of patients <sup>[125]</sup>.

### c. Psychological Factors

Psychological factors can arise from a stressful situation such as career and work-related stress, family problems, examinations, and may be at the base of disorders such as anxiety and depression, manifested at the time or even years later. Also, situations of trauma and physical, sexual or psychological abuse should be investigated taking into account their

connection with the later development of symptoms, as discussed above. It is critical the identification of these psychological factors in a first approach, which is only possible with the existence of a transparent relationship built with the patient <sup>[101]</sup>. Upon its recognition, external collaboration should be requested, referring patient to a mental health professional.

Stress is known to induce the HPA axis to secrete CRH, adrenocorticotrophic hormone (ACTH), and cortisol <sup>[132]</sup>. Therefore, psychosocial stressors may increase free cortisol levels, which seems to be related to the worsening of abdominal symptoms due to mucosal activation immune system and ENS as well via mast cells released, which in turn produce histamine and 5-HT involved with the visceral pain process as discussed earlier <sup>[133]</sup>.

Thus, performing stress management techniques could reduce pain symptoms in chronic functional disorders such as fibromyalgia and IBS <sup>[134]</sup> <sup>[135]</sup>. Psychological therapies including Cognitive Behavioural Therapy (CBT), have shown some positive results in clinical trials. A randomized controlled trial in patients with IBS linked the use of this therapy with a substantial short-to-medium-term improvement in symptoms in drug-resistant patients. <sup>[136]</sup> Improvements in abdominal pain and quality of life in patients with IBS 2 and 3 months after treatment were also reported when compared either with usual care or with placebo. <sup>[137]</sup> Thus, the clinical use of these therapies could be a useful ally in primary care, especially when pharmacological treatment is not sufficient to relieve symptoms. However, it remains to study in more detail the effectiveness of these treatments as well as to know their long-term effects compared to the placebo effect, so that new conclusions can be constructed. Even so, the beneficial role that this could play for patients who seek new therapeutic approaches to the already known ones is highlighted. <sup>[138]</sup>

At this point, have discussed lifestyle and psychological issues that might help managing IBS, it is important to emphasize that it is not recommended to move towards drug therapy alone with detriment of the other approaches discussed above, since the long-term effectiveness of treatment can be compromised. This is because, as already mentioned, the use of pharmacology without changing certain daily habits is not sustainable over time <sup>[139]</sup>. As a chronic condition, in more stressful periods of life, IBS symptoms can be exacerbated, where recurring to pharmacotherapy is a valid option ameliorate symptoms. Nonetheless, having a healthy eating routine, high daily hydration, good night of rest and controlled stress levels from the beginning, benefiting from professionals in each area when necessary, is crucial to prevent exacerbation of symptoms before using medication, and that may undoubtedly improve patient quality of life <sup>[140]</sup>.

#### d. Pharmacotherapy approaches

As for pharmacotherapy, since disorder manifestations are so heterogeneous and depend on patient to patient, there is no standard treatment. It should be taking into account the life experiences each patient is driving through and its constraints and symptoms' triggers, since treatment can be influenced by them. Thus, the situation of each person has to be evaluated separately, considering their predominant symptoms and main concerns, in order to establish the best possible treatment for each <sup>[101]</sup>.

#### Pain Management

In which concerns to recurrent abdominal pain or cramping standard therapeutic approaches are available based on drugs that aim to relieve these sensations. Antispasmodics drugs have been the most prescribed since they help reducing abdominal symptoms and distension by acting in muscle wall contractility.

Dicyclomine is an anticholinergic medication extensively used in the United States that relieves intestinal spasms in IBS-D patients. It must be considered that this type of drug can cause constipation as a side effect, thus this factor must be taken into account when choosing an antispasmodic drug, as it may benefit some patients, but greatly worsen another's condition. This drug is not approved for commercialization in Portugal, but others such as mebeverine, a smooth muscle relaxant, is widely used in the country for the same indication <sup>[141]</sup>. Also, pinaverium, a GI-selective calcium channel antagonist and trimebutine, a peripheral opiate receptor agonist, are indicated for relieving colic and motility disorders. Besides butylscopolamine, also known as hyoscine butylbromide, an anticholinergic widely used in Portugal to diminish abdominal and menstrual cramps <sup>[121]</sup>, and peppermint oil capsules which has long been indicated for digestive disorders, has been more recently commercialized for this specific indication of IBS GI symptoms relief. After much research its effectiveness has been associated with a relaxing action in smooth muscle of intestinal walls, alleviation of spasms and decreased flatulence <sup>[142]</sup>.

When the activity of antispasmodic agents is not enough, the use of antidepressants at lower doses than those used in psychiatric disorders has been widely used for this indication, since their analgesia properties can be quite useful in this context of pain modulation. Serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) such as fluoxetine, citalopram and paroxetine can be quite effective especially in people with IBS-C since SSRIs may loosen bowels and lead to more watery stools. Tricyclic antidepressants (TCAs) as amitriptyline and imipramine could be more



beneficial in IBS-D patients since they are associated with constipation worsening. Both classes demonstrated general improvement of IBS symptoms when compared to placebo <sup>[138]</sup> <sup>[121]</sup>.

### Bloating management

For this abdominal sensation so common in IBS patients as well as in healthy people in general, there aren't many therapeutic options, however, the one that have shown the most efficacy so far is simethicone, an antiflatulent widely used for trapped gases and colic in babies, and it can be found also in association with other compounds, either to improve digestion or to relieve diarrhoea. Also some prokinetic agents as metoclopramide and activated charcoal have shown some efficacy in IBS, however, more detailed studies need to be performed to confirm its role <sup>[141]</sup>. Like so, peppermint oil capsules as described above have shown evidence for flatulence and distension pacification, therefore it has been widely commercialized with the plus it can be used from twelve years old <sup>[143]</sup>.

Some patients have shown improvement of altered bowel habits, abdominal pain and bloating using antibiotic therapy. The corresponding mechanism could have to do with the decrease in the intestinal flora, which, once responsible for fermentation reactions of the ingested nutrients, releasing gases such as hydrogen, methane and carbon dioxide, the result of this bacterial undergrowth may result in a decrease in the amount of gases released and consequently lower bloating sensation. However, this effect may be transitory, as soon as the intestinal flora is restored <sup>[101]</sup>. Short-term use of nonabsorbable antibiotics such as rifaximin in patients with moderate to severe IBS and no constipation symptoms could be beneficial, as long as treatment with other pharmacological classes is not effective <sup>[144]</sup>. However, it is not a therapy recommended for every patient with IBS, since as discussed above, a decrease in beneficial intestinal microbiota induced by this type of drug can have consequences such as dysbiosis, which seems to be related to the posterior development either of intestinal or extra-intestinal disorders, as it is often said that gut is our second brain.

Certain probiotics may help in lessen IBS symptoms, namely flatulence and bloating <sup>[145]</sup>. They are often associated concomitantly with the treatment of infectious diarrhoea with the aim of normalizing the intestinal microbiota that was unbalanced during the diarrhoea process and restoring the permeability of the intestinal barrier allowing the optimal functioning of the immune defence mechanisms present in the mucous membranes <sup>[101]</sup>. Thus, trials using *Lactobacillus plantarum* 299V shown general health condition improvement in patients with IBS, decreasing abdominal pain and flatulence, possibly explained by the fact these bacteria are involved in the metabolism of arginine that is a substrate for enzymes that synthesize nitric

oxide (NO), and since this compound exerts a positive effect on the smooth muscle bowel walls, imbalances in motility could be attenuated <sup>[146]</sup>. Additionally, *Bifidobacterium infantis* 35624 trials have shown significant relief of abdominal pain and bloating when in association with other probiotics, compared to placebo <sup>[147]</sup> <sup>[148]</sup>, and *Saccharomyces boulardii* was described to inhibit gut motility via SERT upregulation relieving colic symptoms. Despite this, more data is needed to assure its efficacy in IBS therapeutic <sup>[149]</sup>.

It is thus evident that probiotics can have a huge benefit in GI symptoms, with the great advantage of being mostly safe with none or few known adverse effects, which in more debilitated groups such as children and polymedicated elderly is a critical factor to regard. However, it must be considered that not a single probiotic may work for all patients, what means each situation must be evaluated by the physician and only then, if necessary, a preparation containing probiotics can be prescribed, either a specific strain or in association with others <sup>[145]</sup> <sup>[150]</sup>.

### Diarrhoea management

One of the most used drugs to cease diarrhoea is loperamide, that acts by binding to  $\mu$ -opioid receptor agonist in the intestinal wall, inhibiting the release of acetylcholine and prostaglandins, reducing peristalsis and thus incrementing the residence time of intestinal content, increasing luminal water absorption and decreasing secretion, which consequently leads to stool consistency improvement. It also appears to increase anal sphincter tone by reducing incontinence, what can be very advantageous when traveling, in social life and under stressful situations, avoiding episodes of diarrhoea. Its uncontrolled use can lead to rebound constipation, which can pose a problem sooner or later. Thus, its indication should be limited to the necessary, and in other situations it is advisable to carry out electrolyte replacement solutions, as well as recommend a probiotic preparation to restore the intestinal microbiota lost within diarrhoea process <sup>[101]</sup>.

In addition, some serotonin type-3 receptor antagonists (5HT<sub>3</sub>RAs) as ondansetron and alosetron are currently being used for their benefits in colonic transit delay in IBS patients when compared to placebo studies, showing stool consistency improvement and reducing frequency and urgency of defecation. Alosetron appears to be substantially more potent than ondansetron, however both can lead to constipation and colon ischemia as a side effect. This was the first drug approved by FDA with a specific indication for IBS-D, addressed to women with severe IBS-D whose treatment with conventional therapies hasn't shown effectiveness <sup>[141]</sup>.

As discussed earlier, TCAs such as amitriptyline and antibiotics like rifaximin have been used extensively in patients with IBS-D when other conventional treatments are not enough, or as adjuvants thereof. TCAs act in this context by decreasing intestinal transit time, improving stool consistency. Rifaximin showed improvement in the global symptoms of patients with IBS-D in randomized placebo-controlled trials, including increased stool consistency and decreased abdominal pain and bloating, evidencing that its repeated treatment could decrease the frequency of symptoms recurrence <sup>[151]</sup> <sup>[152]</sup>.

Along with the rifaximin approval by FDA, comes in 2015 eluxadoline for the treatment of IBS-D in both men and women, a mixed  $\mu$ - and  $\kappa$ -opioid receptor agonist and  $\delta$ -opioid receptor antagonist that acts locally on gut proper function regulation processes such as visceral sensation and bowel motility and secretion. While its binding to  $\mu$  and  $\kappa$ -opioid agonist receptors promotes GI transit attenuation and a decrease on secretion activity, eluxadoline connection to  $\delta$ -opioid antagonist receptor alleviates the strong prior inhibition by  $\mu$  and  $\kappa$  receptor agonists, resulting in a balance of intestinal function with contractile and secretory activity similar to the physiological one in the intestines, compared to the activity of only  $\mu$ -agonist opioid receptors without any opposing mechanism as is the case of loperamide <sup>[151]</sup>.

### Constipation management

For this symptom, treatment involves determining the pharmacological class most favourable for each patient, considering treatment time and side effects between each one.

The use of fibre and bulking agents such as psyllium, ispaghula and methylcellulose can be useful and enough in some situations, however, they only seem to have a beneficial effect on constipation symptom and not on pain, bloating or flatulence in IBS patients, and may even worsen them. Thus, whenever there is another associated symptom, other pharmacological classes may be considered <sup>[153]</sup>.

Osmotic laxatives like lactulose, sorbitol, macrogol, milk of magnesia and polyethylene glycol (PEG) represent nonabsorbable carbohydrates that by osmosis draw water into the stool smoothing its consistency, which can be helpful, even though it may worsen bloating symptom if taken in high doses. Stimulant laxatives such as bisacodyl, senna and glycerol, despite having a quicker action time what can be convenient, they stimulate bowel contraction, which can exacerbate symptoms of cramping and abdominal pain <sup>[153]</sup>.

Guanylate cyclase C agonists such as linaclotide have been shown to improve stool consistency and defecation frequency as well as global IBS-C symptoms including abdominal pain. It is recommended also in situation of chronic constipation <sup>[154]</sup>.

Lubiprostone has also been widely used in the treatment of IBS and chronic idiopathic constipation. Being a selective C-2 chloride channel activator present on the luminal surface of the intestinal epithelium, it increases the amount of fluid within intestines via chloride channel activation and consequently entry of sodium into intestinal lumen through basolateral Na-K-2Cl secretion. This leads the water to flow passively, improving the consistency and passage of stool through bowels <sup>[155]</sup> <sup>[156]</sup>. Its benefit has been described mainly in women with severe IBS-C showing an improvement in the symptoms of bloating, abdominal discomfort, and decreased straining, however, it is contraindicated by the FDA in GI obstruction case <sup>[141]</sup>.

Serotonin type 4 (5-HT<sub>4</sub>) agonists are being extensively reviewed and some results have been shown to be useful in the treatment of numerous disorders. In the case of tegaserod that being a partial 5-HT<sub>4</sub> receptor agonist with high specificity and potency, it decreases colonic transit time and increases motility by stimulating the peristaltic reflex, according to preclinical studies. Therefore, tegaserod is recommended for the relief of global IBS symptoms, particularly in women with IBS-C <sup>[101]</sup>.

Prucalopride is another selective and potent 5-HT<sub>4</sub> receptor agonist tested in patients with idiopathic chronic constipation, acting by the same mechanism of making stool softer and easier to its passage. By this reason it has been used in chronic IBS-C patients, however, clearer studies must be completed so it can be included in therapeutic lines <sup>[157]</sup>.

SSRIs could also be a viable option for patients suffering from IBS with symptoms of both constipation and abdominal pain as it could alleviate both symptoms by its effect on central pain, psychological distress and accelerating GI transit. However, since its efficacy in IBS compared with placebo studies remains unclear, and considering related side effects such as dry mouth, its use for this indication is limited <sup>[121]</sup>.

## **5. Potential Future Challenges and Clinical Translation**

Beyond the canonical therapeutic approaches discussed above, and in line with the novel findings that link epigenetics and microbiota composition to IBS, the future direction for disease management surely will include these innovative strategies, as briefly discussed ahead.

## i. Genetic and Epigenetic Therapy Advances

Since the role of intestinal barrier function seems to be one of the main factors included in the pathophysiology of IBS, epigenetic mechanisms involved in its dysfunction have been subject of many studies, in the sense of developing epigenetic therapies to rectify these dysfunctions. One of these is the role of miRNAs and its regulatory functions in tight junctions, crucial constituents for the integrity of the intestinal barrier and consequent permeability. Thus, the overexpression of some miRNAs and the downregulation of others have been associated with mechanisms of intestinal barrier dysfunction, which places them in the role of potential diagnostic markers for intestinal pathologies, and even as therapeutic targets. <sup>[158]</sup> <sup>[159]</sup>

Also, in order to mimic the human condition as much as possible, with the development of laboratory-created organoids with inclusion of an associated ENS, and also creation of small intestines in a chip developed out of these organoids has been already possible to make. Thus, with these advances it turns more accessible to study the mechanisms of gene expression and genetic variations related to intestinal barrier functions <sup>[160]</sup>.

## ii. Advances In Nutrigenomics

Over the last two decades this new area has been on focus by many researchers, debating on how diet influences epigenetic and genomic factors and vice versa, which in a context of illnesses whose pathophysiology includes these factors, allows us to better understand and study its role in modulation and prevention of disease <sup>[161]</sup>.

Diet has an impact in metabolism and several metabolic intermediates are either substrates or modulators of the enzymes (writers and erasers) that catalyse the epigenetic marks. Likewise, caloric restriction has been shown to influence on DNA methylation profile that, in turn, may be subject to change as seen in abdominal subcutaneous adipose tissue in obese or overweight adults <sup>[162]</sup>. These results were associated with the intervention of diet on gene expression via epigenetic mechanisms and later on biochemical parameters and physiological changes <sup>[163]</sup>.

A further line of evidence for the diet-dependent modulation gene expression is via its influence on gut microbiota composition, which is closely connected with the manifestation of symptoms in intestinal disorders as IBS, as previously discussed <sup>[164]</sup>. Future advances on this area would certainly open doors to the characterization of dietary patterns in patients with IBS, that along with its necessities and personal characteristics, allow to create an individualized therapy personalized nutrition for each patient <sup>[165]</sup>.

### iii. Advances in Gut Microbiota

Changes in the intestinal flora characteristics have been linked to susceptibility to develop gastrointestinal tract disorders. A cohort study compared results from IBS patients with healthy controls, distinguishing between IBS subtypes on basis of 16S rRNA gene sequencing and microbial composition analysis. Depending on the predominant symptom, diarrhoea or constipation, differences in the composition of the faecal microbiota present in the mucosa were observed. That said, it was verified a higher abundance in the species *Prevotella-9 copri* in patients with IBS, which made possible to researchers to relate its presence with an increased abdominal pain experienced <sup>[166]</sup>.

Therefore, it can be deduced that by adjusting or replacement of the microbiota associated with disease by a microbiota pattern considered beneficial to the host, might be a future strategy to counteract the disease process and move again towards intestinal health. In fact, manipulation of gut microbiota has been considered as a treatment to improve symptoms in patients with IBS. Faecal microbiota transplantation (FMT) has been subject of plenty studies. This procedure involves delivering a suspension containing faecal material from healthy donors to the patient's gut through naso-jejunal tube, gastroscopy or colonoscopy. Several clinical trials are still ongoing to ascertain the efficacy of this potential treatment in the long-term, and promising results are expected <sup>[167]</sup>.

### iv. Advances In Probiotics Area

Another way to modulate the intestinal microbiota is through the use of probiotic strains, that are specific for each case and have evidence for a particular indication. With this, benefits not only on improving the constitution of the intestinal microbiota but also in contributing to mucosal barrier homeostasis, reducing visceral hypersensitivity, improving the endothelial immune system and also anti-inflammatory effects have been reported <sup>[168] [169] [170]</sup>.

A randomized controlled trial using *Bifidobacterium infantis* 35624 has shown significant improvement in IBS general symptoms such as abdominal pain, bloating, and gut transit compared with placebo <sup>[145]</sup>. Another randomized triple-blind trial using *Lactobacillus acidophilus* reported an improvement in abdominal pain through the mechanism of decreasing visceral hypersensitivity. This is because this species increases opioid receptor expression in the colon mucosa producing this analgesic activity <sup>[171]</sup>.

Furthermore, due to advances in microbiota sequencing, *Akkermansia muciniphila* has been much subject of study. A mucolytic bacteria abundant in healthy individuals, but

diminished in patients with intestinal inflammation, metabolic diseases and response to immunotherapy in several cancers. Hence, it has functions in the integrity of the intestinal barrier, regulation of the immune response and also in the inflammation process <sup>[172]</sup>. In an observational study intended to investigate the clinical effects on intestinal microbial diversity after the FMT procedure in patients with IBS, an increase in *A. muciniphila* population after FMT was associated with a decrease in abdominal pain symptoms <sup>[173] [174]</sup>. Thus, since it's been recent studies, long-term effects on symptom management in patients need to be clarified, but positive effects are expected taking into account the results obtained so far, possibly placing probiotic therapy in the future alongside other conventionalized therapies.

#### v. Biomarkers of IBS - A New Hope for IBS Diagnosis?

The search for biomarkers has been a widespread hope for the diagnosis of almost every disease and to predict responses to therapy. The same applies to IBS. As discussed earlier, IBS is mainly diagnosed by excluding other diseases with the same associated symptoms, along with several tests using biological fluids and gastroscopies and colonoscopies with biopsies when necessary. Also, anamnesis and the current symptomatology analysis are made backed by the Rome Criteria. This, in addition to make the diagnosis process quite subjective, turns out to be time-consuming and an exhausting process for both patient and physician. Therefore, work has been done in recent years to develop faster and unambiguous methods to smooth the diagnosis process <sup>[175]</sup>.

Chromogranin A cell (CgA) density emerged as a promising biological marker of IBS. It was found that these secretory proteins present in endocrine cells are found in low density in the duodenum, ileum and colon in both IBS-D and IBS-C patients. Hence, these findings leave open the development of a new histopathological method for IBS diagnosis. <sup>[176] [177]</sup>

A case-control study tested and validated a combination of biomarkers correlated with the severity of IBS symptoms and identified 4 serum markers - IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12p70, TNF- $\alpha$  and 4 faecal markers - CgA, HBD2 (human  $\beta$ -defensin 2), calprotectin and caproate, that demonstrated to be significantly different in IBS patients compared to control group. This panel of non-invasive biomarkers may turn possible to diagnose several patients with functional bowel disorders in daily practice in a faster and more objective way. <sup>[178]</sup>

Also, a blood test approved in the United States that brings together a total of 10 IBS biomarkers, together with other parameters, promises to be a potential method to put into practice, although it is necessary to reveal more robust evidence. <sup>[101] [179]</sup>

## **6. Conclusion**

IBS is a chronic disease, and so it is not only associated with a change in the patient's daily life which can be very difficult to deal in period of crisis, either for the patient himself or for those closest to him, but also represents huge health care costs, since it may take several medical appointments, exams and tests to have a final diagnosis, in addition to the fact that it may take some time to get a therapy that is effective in managing the symptoms of a given patient.

Along these lines, scientific and technological advances with the development of diagnostic methods and tools would represent a relief for patient, who has to go through the whole process often in suffering and without support. Although specific mechanisms underlying IBS have not been identified that would permit to target the disease with efficacy, new discoveries in the area of epigenetics, nutrigenomics, probiotics and microbiota could represent a fresh breath on this context, not only in treatment, but also in diagnosis. Moreover, it is essential that more and well-designed clinical trials are carried out, using diagnostic criteria internationally approved. In addition, discovery of new biomarkers of disease preventing its progression and development of new methods able to identify symptom triggers and limiting factors in therapeutics are being awaited.



## Bibliography

- [1] MONGE, EDUARDO - **Síndrome de intestino irritable : Enfoque en el tiempo y tratamiento actual [Webinar]**. Sociedad de Gastroenterología del Perú: 2020.
- [2] DISORDERS, INTERNATIONAL FOUNDATION FOR GASTROINTESTINAL - **Reporter's Guide to Irritable Bowel Syndrome - Second Edition**. 2015.
- [3] RODIÑO-JANEIRO, B. K.; PARDO-CAMACHO, C.; SANTOS, J.; MARTÍNEZ, C. - **Mucosal RNA and protein expression as the next frontier in IBS: abnormal function despite morphologically intact small intestinal mucosa**. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 316 (2019) G701-g719.
- [4] QUIGLEY, E. M.; FRIED, M.; GWEE, K. A.; KHALIF, I.; HUNGIN, A. P.; LINDBERG, G.; ABBAS, Z.; FERNANDEZ, L. B.; BHATIA, S. J.; SCHMULSON, M.; OLANO, C.; LEMAIR, A. - **World Gastroenterology Organisation Global Guidelines Irritable Bowel Syndrome: A Global Perspective Update September 2015**. J Clin Gastroenterol. 50 (2016) 704-13.
- [5] KIM, Y. S.; KIM, N. - **Sex-Gender Differences in Irritable Bowel Syndrome**. J Neurogastroenterol Motil. 24 (2018) 544-558.
- [6] AGARWAL, N.; SPIEGEL, B. M. - **The effect of irritable bowel syndrome on health-related quality of life and health care expenditures**. Gastroenterol Clin North Am. 40 (2011) 11-9.
- [7] MEARIN, F.; CIRIZA, C.; MÍNGUEZ, M.; REY, E.; MASCORT, J. J.; PEÑA, E.; CAÑONES, P.; JÚDEZ, J. - **[Clinical practice guidelines: Irritable bowel syndrome with constipation and functional constipation in adults: Concept, diagnosis, and healthcare continuity. (Part I of 2)]**. Aten Primaria. 49 (2017) 42-55.
- [8] Douglas A. Drossman, MD, Senior Editor - **Rome IV: Functional Gastrointestinal Disorders 4th Edition**. 2016. ISBN:
- [9] WHITEHEAD, W. E.; PALSSON, O. S.; LEVY, R. R.; FELD, A. D.; TURNER, M.; VON KORFF, M. - **Comorbidity in irritable bowel syndrome**. Am J Gastroenterol. 102 (2007) 2767-76.
- [10] BHATTARAI, Y.; MUNIZ PEDROGO, D. A.; KASHYAP, P. C. - **Irritable bowel syndrome: a gut microbiota-related disorder?** Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 312 (2017) G52-g62.
- [11] KOLOSKI, N. A.; JONES, M.; TALLEY, N. J. - **Evidence that independent gut-to-brain and brain-to-gut pathways operate in the irritable bowel syndrome and functional dyspepsia: a 1-year population-based prospective study**. Aliment Pharmacol Ther. 44 (2016) 592-600.
- [12] HOLTSMANN, G. J.; FORD, A. C.; TALLEY, N. J. - **Pathophysiology of irritable bowel syndrome**. Lancet Gastroenterol Hepatol. 1 (2016) 133-146.
- [13] SYKES, M. A.; BLANCHARD, E. B.; LACKNER, J.; KEEFER, L.; KRASNER, S. - **Psychopathology in irritable bowel syndrome: support for a psychophysiological model**. J Behav Med. 26 (2003) 361-72.
- [14] DROSSMAN, D. A. - **Presidential address: Gastrointestinal illness and the biopsychosocial model**. Psychosom Med. 60 (1998) 258-67.

- [15] DROSSMAN, D. A.; CREED, F. H.; OLDEN, K. W.; SVEDLUND, J.; TONER, B. B.; WHITEHEAD, W. E. - **Psychosocial aspects of the functional gastrointestinal disorders**. Gut. 45 Suppl 2 (1999) li25-30.
- [16] TANAKA, Y.; KANAZAWA, M.; FUKUDO, S.; DROSSMAN, D. A. - **Biopsychosocial model of irritable bowel syndrome**. J Neurogastroenterol Motil. 17 (2011) 131-9.
- [17] PARK, S. H.; VIDELOCK, E. J.; SHIH, W.; PRESSON, A. P.; MAYER, E. A.; CHANG, L. - **Adverse childhood experiences are associated with irritable bowel syndrome and gastrointestinal symptom severity**. Neurogastroenterol Motil. 28 (2016) 1252-60.
- [18] GILBERT, L. K.; BREIDING, M. J.; MERRICK, M. T.; THOMPSON, W. W.; FORD, D. C.; DHINGRA, S. S.; PARKS, S. E. - **Childhood adversity and adult chronic disease: an update from ten states and the District of Columbia, 2010**. Am J Prev Med. 48 (2015) 345-9.
- [19] DROSSMAN, D. A. - **Abuse, trauma, and GI illness: is there a link?** Am J Gastroenterol. 106 (2011) 14-25.
- [20] RINGEL, Y.; DROSSMAN, D. A.; TURKINGTON, T. G.; BRADSHAW, B.; HAWK, T. C.; BANGDIWALA, S.; COLEMAN, R. E.; WHITEHEAD, W. E. - **Regional brain activation in response to rectal distension in patients with irritable bowel syndrome and the effect of a history of abuse**. Dig Dis Sci. 48 (2003) 1774-81.
- [21] GUPTA, A.; KILPATRICK, L.; LABUS, J.; TILLISCH, K.; BRAUN, A.; HONG, J. Y.; ASHE-MCNALLEY, C.; NALIBOFF, B.; MAYER, E. A. - **Early adverse life events and resting state neural networks in patients with chronic abdominal pain: evidence for sex differences**. Psychosom Med. 76 (2014) 404-12.
- [22] BRADFORD, K.; SHIH, W.; VIDELOCK, E. J.; PRESSON, A. P.; NALIBOFF, B. D.; MAYER, E. A.; CHANG, L. - **Association between early adverse life events and irritable bowel syndrome**. Clin Gastroenterol Hepatol. 10 (2012) 385-90.e1-3.
- [23] CHEY, W. D.; KURLANDER, J.; ESWARAN, S. - **Irritable bowel syndrome: a clinical review**. Jama. 313 (2015) 949-58.
- [24] HALL, G. B.; KAMATH, M. V.; COLLINS, S.; GANGULI, S.; SPAZIANI, R.; MIRANDA, K. L.; BAYATI, A.; BIENENSTOCK, J. - **Heightened central affective response to visceral sensations of pain and discomfort in IBS**. Neurogastroenterol Motil. 22 (2010) 276-e80.
- [25] CHEN, J. Y.; BLANKSTEIN, U.; DIAMANT, N. E.; DAVIS, K. D. - **White matter abnormalities in irritable bowel syndrome and relation to individual factors**. Brain Res. 1392 (2011) 121-31.
- [26] ELSENBRUCH, S.; ROSENBERGER, C.; BINGEL, U.; FORSTING, M.; SCHEDLOWSKI, M.; GIZEWSKI, E. R. - **Patients with irritable bowel syndrome have altered emotional modulation of neural responses to visceral stimuli**. Gastroenterology. 139 (2010) 1310-9.
- [27] ELLINGSON, B. M.; MAYER, E.; HARRIS, R. J.; ASHE-MCNALLY, C.; NALIBOFF, B. D.; LABUS, J. S.; TILLISCH, K. - **Diffusion tensor imaging detects microstructural reorganization in the brain associated with chronic irritable bowel syndrome**. Pain. 154 (2013) 1528-1541.
- [28] VANUYTSEL, T.; VAN WANROOY, S.; VANHEEL, H.; VANORMELINGEN, C.; VERSCHUEREN, S.; HOUBEN, E.; SALIM RASOEL, S.; TOTH, J.; HOLVOET, L.; FARRÉ, R.; VAN OUDENHOVE, L.; BOECKXSTAENS, G.; VERBEKE, K.; TACK, J. - **Psychological stress and corticotropin-**

**releasing hormone increase intestinal permeability in humans by a mast cell-dependent mechanism.** *Gut.* 63 (2014) 1293-9.

- [29] Healt, Institute of Medicine (US) Committee on Gulf War and - **Gulf War and Health: Volume 8: Update of Health Effects of Serving in the Gulf War.** Washington, DC: The National Academies Press, 2010. ISBN:
- [30] THURSBY, E.; JUGE, N. - **Introduction to the human gut microbiota.** *Biochem J.* 474 (2017) 1823-1836.
- [31] URSELL, L. K.; METCALF, J. L.; PARFREY, L. W.; KNIGHT, R. - **Defining the human microbiome.** *Nutr Rev.* 70 Suppl 1 (2012) S38-44.
- [32] JANDHYALA, S. M.; TALUKDAR, R.; SUBRAMANYAM, C.; VUYURU, H.; SASIKALA, M.; NAGESHWAR REDDY, D. - **Role of the normal gut microbiota.** *World J Gastroenterol.* 21 (2015) 8787-803.
- [33] MOROWITZ, M. J.; CARLISLE, E. M.; ALVERDY, J. C. - **Contributions of intestinal bacteria to nutrition and metabolism in the critically ill.** *Surg Clin North Am.* 91 (2011) 771-85, viii.
- [34] ALAKOMI, H. L.; SKYTTÄ, E.; SAARELA, M.; MATTILA-SANDHOLM, T.; LATVA-KALA, K.; HELANDER, I. M. - **Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane.** *Appl Environ Microbiol.* 66 (2000) 2001-5.
- [35] D'AQUILA, P.; CARELLI, L. L.; DE RANGO, F.; PASSARINO, G.; BELLIZZI, D. - **Gut Microbiota as Important Mediator Between Diet and DNA Methylation and Histone Modifications in the Host.** *Nutrients.* 12 (2020)
- [36] BENGMARK, S. - **Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora.** *Gut.* 42 (1998) 2-7.
- [37] AAGAARD, K.; MA, J.; ANTONY, K. M.; GANU, R.; PETROSINO, J.; VERSALOVIC, J. - **The placenta harbors a unique microbiome.** *Sci Transl Med.* 6 (2014) 237ra65.
- [38] RODRÍGUEZ, J. M.; MURPHY, K.; STANTON, C.; ROSS, R. P.; KOBER, O. I.; JUGE, N.; AVERSHINA, E.; RUDI, K.; NARBAD, A.; JENMALM, M. C.; MARCHESI, J. R.; COLLADO, M. C. - **The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life.** *Microb Ecol Health Dis.* 26 (2015) 26050.
- [39] PALMER, C.; BIK, E. M.; DIGIULIO, D. B.; RELMAN, D. A.; BROWN, P. O. - **Development of the human infant intestinal microbiota.** *PLoS Biol.* 5 (2007) e177.
- [40] DOMINGUEZ-BELLO, M. G.; BLASER, M. J.; LEY, R. E.; KNIGHT, R. - **Development of the human gastrointestinal microbiota and insights from high-throughput sequencing.** *Gastroenterology.* 140 (2011) 1713-9.
- [41] SALMINEN, S.; GIBSON, G. R.; MCCARTNEY, A. L.; ISOLAURI, E. - **Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children.** *Gut.* 53 (2004) 1388-9.
- [42] BEZIRTZOGLU, E.; TSIOTSIAS, A.; WELLING, G. W. - **Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH).** *Anaerobe.* 17 (2011) 478-82.
- [43] KOENIG, J. E.; SPOR, A.; SCALFONE, N.; FRICKER, A. D.; STOMBAUGH, J.; KNIGHT, R.; ANGENENT, L. T.; LEY, R. E. - **Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108 Suppl 1 (2011) 4578-85.

- [44] CARROLL, I. M.; CHANG, Y. H.; PARK, J.; SARTOR, R. B.; RINGEL, Y. - **Luminal and mucosal-associated intestinal microbiota in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome.** *Gut Pathog.* 2 (2010) 19.
- [45] SALONEN, A.; DE VOS, W. M.; PALVA, A. - **Gastrointestinal microbiota in irritable bowel syndrome: present state and perspectives.** *Microbiology (Reading).* 156 (2010) 3205-3215.
- [46] RINNINELLA, E.; RAOUL, P.; CINTONI, M.; FRANCESCHI, F.; MIGGIANO, G. A. D.; GASBARRINI, A.; MELE, M. C. - **What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases.** *Microorganisms.* 7 (2019)
- [47] LEY, R. E.; HAMADY, M.; LOZUPONE, C.; TURNBAUGH, P. J.; RAMEY, R. R.; BIRCHER, J. S.; SCHLEGEL, M. L.; TUCKER, T. A.; SCHRENZEL, M. D.; KNIGHT, R.; GORDON, J. I. - **Evolution of mammals and their gut microbes.** *Science.* 320 (2008) 1647-51.
- [48] LEY, R. E.; BÄCKHED, F.; TURNBAUGH, P.; LOZUPONE, C. A.; KNIGHT, R. D.; GORDON, J. I. - **Obesity alters gut microbial ecology.** *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102 (2005) 11070-5.
- [49] LEY, R., TURNBAUGH, P., KLEIN, S. ET AL. - **Human gut microbes associated with obesity.** *Nature* 444 (2006) 1022–1023.
- [50] HOOPER, L. V.; MACPHERSON, A. J. - **Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota.** *Nat Rev Immunol.* 10 (2010) 159-69.
- [51] SMITH, K.; MCCOY, K. D.; MACPHERSON, A. J. - **Use of axenic animals in studying the adaptation of mammals to their commensal intestinal microbiota.** *Semin Immunol.* 19 (2007) 59-69.
- [52] BISCHOFF, S. C.; BARBARA, G.; BUURMAN, W.; OCKHUIZEN, T.; SCHULZKE, J. D.; SERINO, M.; TILG, H.; WATSON, A.; WELLS, J. M. - **Intestinal permeability--a new target for disease prevention and therapy.** *BMC Gastroenterol.* 14 (2014) 189.
- [53] ZHOU, Q.; ZHANG, B.; VERNE, G. N. - **Intestinal membrane permeability and hypersensitivity in the irritable bowel syndrome.** *Pain.* 146 (2009) 41-6.
- [54] VERNE, G. N.; PRICE, D. D. - **Irritable bowel syndrome as a common precipitant of central sensitization.** *Curr Rheumatol Rep.* 4 (2002) 322-8.
- [55] JALANKA, J.; SALONEN, A.; FUENTES, S.; DE VOS, W. M. - **Microbial signatures in post-infectious irritable bowel syndrome--toward patient stratification for improved diagnostics and treatment.** *Gut Microbes.* 6 (2015) 364-9.
- [56] MARSHALL, J. K.; THABANE, M.; GARG, A. X.; CLARK, W. F.; SALVADORI, M.; COLLINS, S. M. - **Incidence and epidemiology of irritable bowel syndrome after a large waterborne outbreak of bacterial dysentery.** *Gastroenterology.* 131 (2006) 445-50; quiz 660.
- [57] THABANE, M.; MARSHALL, J. K. - **Post-infectious irritable bowel syndrome.** *World J Gastroenterol.* 15 (2009) 3591-6.
- [58] SPILLER, R. C.; JENKINS, D.; THORNLEY, J. P.; HEBDEN, J. M.; WRIGHT, T.; SKINNER, M.; NEAL, K. R. - **Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute *Campylobacter* enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome.** *Gut.* 47 (2000) 804-11.

- [59] GWEE, K. A.; COLLINS, S. M.; READ, N. W.; RAJNAKOVA, A.; DENG, Y.; GRAHAM, J. C.; MCKENDRICK, M. W.; MOOCHHALA, S. M. - **Increased rectal mucosal expression of interleukin 1beta in recently acquired post-infectious irritable bowel syndrome.** *Gut.* 52 (2003) 523-6.
- [60] MARSHALL, J. K.; THABANE, M.; GARG, A. X.; CLARK, W.; MEDDINGS, J.; COLLINS, S. M. - **Intestinal permeability in patients with irritable bowel syndrome after a waterborne outbreak of acute gastroenteritis in Walkerton, Ontario.** *Aliment Pharmacol Ther.* 20 (2004) 1317-22.
- [61] REN, K.; TORRES, R. - **Role of interleukin-1 beta during pain and inflammation.** *Brain Res Rev.* 60 (2009) 57-64.
- [62] VILLANI, A. C.; LEMIRE, M.; THABANE, M.; BELISLE, A.; GENEAU, G.; GARG, A. X.; CLARK, W. F.; MOAYYEDI, P.; COLLINS, S. M.; FRANCHIMONT, D.; MARSHALL, J. K. - **Genetic risk factors for post-infectious irritable bowel syndrome following a waterborne outbreak of gastroenteritis.** *Gastroenterology.* 138 (2010) 1502-13.
- [63] THABANE, M.; KOTTACHCHI, D. T.; MARSHALL, J. K. - **Systematic review and meta-analysis: The incidence and prognosis of post-infectious irritable bowel syndrome.** *Aliment Pharmacol Ther.* 26 (2007) 535-44.
- [64] SAITO, Y. A.; PETERSEN, G. M.; LARSON, J. J.; ATKINSON, E. J.; FRIDLEY, B. L.; DE ANDRADE, M.; LOCKE, G. R., 3RD; ZIMMERMAN, J. M.; ALMAZAR-ELDER, A. E.; TALLEY, N. J. - **Familial aggregation of irritable bowel syndrome: a family case-control study.** *Am J Gastroenterol.* 105 (2010) 833-41.
- [65] LEMBO, A.; ZAMAN, M.; JONES, M.; TALLEY, N. J. - **Influence of genetics on irritable bowel syndrome, gastro-oesophageal reflux and dyspepsia: a twin study.** *Aliment Pharmacol Ther.* 25 (2007) 1343-50.
- [66] BLACK, C. J.; FORD, A. C. - **Global burden of irritable bowel syndrome: trends, predictions and risk factors.** *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 17 (2020) 473-486.
- [67] JIN, D. C.; CAO, H. L.; XU, M. Q.; WANG, S. N.; WANG, Y. M.; YAN, F.; WANG, B. M. - **Regulation of the serotonin transporter in the pathogenesis of irritable bowel syndrome.** *World J Gastroenterol.* 22 (2016) 8137-48.
- [68] COATES, M. D.; MAHONEY, C. R.; LINDEN, D. R.; SAMPSON, J. E.; CHEN, J.; BLASZYK, H.; CROWELL, M. D.; SHARKEY, K. A.; GERSHON, M. D.; MAWE, G. M.; MOSES, P. L. - **Molecular defects in mucosal serotonin content and decreased serotonin reuptake transporter in ulcerative colitis and irritable bowel syndrome.** *Gastroenterology.* 126 (2004) 1657-64.
- [69] JIA, Z.; WANG, L.; YU, B.; LI, Q.; DONG, X. - **Association between polymorphisms in the serotonin transporter gene-linked polymorphic region and risk for irritable bowel syndrome in China: evidence based on a meta-analysis.** *J Int Med Res.* 47 (2019) 2810-2818.
- [70] YUAN, J.; KANG, C.; WANG, M.; WANG, Q.; LI, P.; LIU, H.; HOU, Y.; SU, P.; YANG, F.; WEI, Y.; YANG, J. - **Association study of serotonin transporter SLC6A4 gene with Chinese Han irritable bowel syndrome.** *PLoS One.* 9 (2014) e84414.
- [71] GARCIA-ETXEBARRIA, K.; ZHENG, T.; BONFIGLIO, F.; BUJANDA, L.; DLUGOSZ, A.; LINDBERG, G.; SCHMIDT, P. T.; KARLING, P.; OHLSSON, B.; SIMREN, M.; WALTER, S.; NARDONE, G.; CUOMO, R.; USAI-SATTA, P.; GALEAZZI, F.; NERI, M.; PORTINCASA, P.; BELLINI, M.; BARBARA, G.; JONKERS, D.; ESWARAN, S.; CHEY, W. D.; KASHYAP, P.; CHANG, L.; MAYER, E. A.; WOUTERS,

- M. M.; BOECKXSTAENS, G.; CAMILLERI, M.; FRANKE, A.; D'AMATO, M. - **Increased Prevalence of Rare Sucrase-isomaltase Pathogenic Variants in Irritable Bowel Syndrome Patients.** Clin Gastroenterol Hepatol. 16 (2018) 1673-1676.
- [72] VERSTRAELEN, T. E.; TER BEKKE, R. M.; VOLDERS, P. G.; MASCLEE, A. A.; KRUIJEL, J. W. - **The role of the SCN5A-encoded channelopathy in irritable bowel syndrome and other gastrointestinal disorders.** Neurogastroenterol Motil. 27 (2015) 906-13.
- [73] BEYDER, A.; MAZZONE, A.; STREGE, P. R.; TESTER, D. J.; SAITO, Y. A.; BERNARD, C. E.; ENDERS, F. T.; EK, W. E.; SCHMIDT, P. T.; DLUGOSZ, A.; LINDBERG, G.; KARLING, P.; OHLSSON, B.; GAZOULI, M.; NARDONE, G.; CUOMO, R.; USAI-SATTA, P.; GALEAZZI, F.; NERI, M.; PORTINCASA, P.; BELLINI, M.; BARBARA, G.; CAMILLERI, M.; LOCKE, G. R.; TALLEY, N. J.; D'AMATO, M.; ACKERMAN, M. J.; FARRUGIA, G. - **Loss-of-function of the voltage-gated sodium channel NaV1.5 (channelopathies) in patients with irritable bowel syndrome.** Gastroenterology. 146 (2014) 1659-1668.
- [74] FUKUDO, S. - **Role of corticotropin-releasing hormone in irritable bowel syndrome and intestinal inflammation.** J Gastroenterol. 42 Suppl 17 (2007) 48-51.
- [75] WEINHOLD, B. - **Epigenetics: the science of change.** Environ Health Perspect. 114 (2006) A160-7.
- [76] BISWAS, S.; RAO, C. M. - **Epigenetic tools (The Writers, The Readers and The Erasers) and their implications in cancer therapy.** Eur J Pharmacol. 837 (2018) 8-24.
- [77] DUPONT, C.; ARMANT, D. R.; BRENNER, C. A. - **Epigenetics: definition, mechanisms and clinical perspective.** Semin Reprod Med. 27 (2009) 351-7.
- [78] MAHURKAR, S.; POLYTARCHOU, C.; ILIOPOULOS, D.; POTHOUKAKIS, C.; MAYER, E. A.; CHANG, L. - **Genome-wide DNA methylation profiling of peripheral blood mononuclear cells in irritable bowel syndrome.** Neurogastroenterol Motil. 28 (2016) 410-22.
- [79] Takeo Kubota, Kunio Miyake, Takae Hirasawa, Višnja Stepanić, Renata Novak Kujundžić, Koraljka Gall Trošelj, Philip A. Marsden, Alexandra A. Majerski, Anthony C. Quinton, Igor N Lebedev, Richard M Millis, Tafari Mbadiwe, Minghua Wu - **Epigenetics and Epigenomics.** IN TECH, 2014. ISBN: 978-953-51-1363-8
- [80] LANG, J.; MCKIE, J.; SMITH, H.; MCLAUGHLIN, A.; GILLBERG, C.; SHIELS, P. G.; MINNIS, H. - **Adverse childhood experiences, epigenetics and telomere length variation in childhood and beyond: a systematic review of the literature.** Eur Child Adolesc Psychiatry. 29 (2020) 1329-1338.
- [81] LAI, S. W.; LIAO, K. F.; LIN, C. L.; SUNG, F. C. - **Irritable bowel syndrome correlates with increased risk of Parkinson's disease in Taiwan.** Eur J Epidemiol. 29 (2014) 57-62.
- [82] MERTSALMI, T. H.; BUT, A.; PEKKONEN, E.; SCHEPERJANS, F. - **Irritable Bowel Syndrome and Risk of Parkinson's Disease in Finland: A Nationwide Registry-Based Cohort Study.** J Parkinsons Dis. 11 (2021) 641-651.
- [83] ROTH, T. L. - **Epigenetic mechanisms in the development of behavior: advances, challenges, and future promises of a new field.** Dev Psychopathol. 25 (2013) 1279-91.

- [84] XIONG, F.; ZHANG, L. - **Role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in developmental programming of health and disease.** *Front Neuroendocrinol.* 34 (2013) 27-46.
- [85] Eggermann, Thomas - **Cytogenomics.** Academic Press, 2021. 20 - Chapter 20 - Epigenetics. ISBN: 9780128235799
- [86] GUAN, L.; SHI, X.; TANG, Y.; YAN, Y.; CHEN, L.; CHEN, Y.; GAO, G.; LIN, C.; CHEN, A. - **Contribution of Amygdala Histone Acetylation in Early Life Stress-Induced Visceral Hypersensitivity and Emotional Comorbidity.** *Front Neurosci.* 16 (2022) 843396.
- [87] BONAZ, B.; BACIU, M.; PAPILLON, E.; BOST, R.; GUEDDAH, N.; LE BAS, J. F.; FOURNET, J.; SEGEBARTH, C. - **Central processing of rectal pain in patients with irritable bowel syndrome: an fMRI study.** *Am J Gastroenterol.* 97 (2002) 654-61.
- [88] LI, Q.; WINSTON, J. H.; SARNA, S. K. - **Developmental origins of colon smooth muscle dysfunction in IBS-like rats.** *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 305 (2013) G503-12.
- [89] NIEDERBERGER, E.; RESCH, E.; PARNHAM, M. J.; GEISSLINGER, G. - **Drugging the pain epigenome.** *Nat Rev Neurol.* 13 (2017) 434-447.
- [90] PAN, Z.; ZHU, L. J.; LI, Y. Q.; HAO, L. Y.; YIN, C.; YANG, J. X.; GUO, Y.; ZHANG, S.; HUA, L.; XUE, Z. Y.; ZHANG, H.; CAO, J. L. - **Epigenetic modification of spinal miR-219 expression regulates chronic inflammation pain by targeting CaMKII $\alpha$ .** *J Neurosci.* 34 (2014) 9476-83.
- [91] KYNAST, K. L.; RUSSE, O. Q.; MÖSER, C. V.; GEISSLINGER, G.; NIEDERBERGER, E. - **Modulation of central nervous system-specific microRNA-124a alters the inflammatory response in the formalin test in mice.** *Pain.* 154 (2013) 368-376.
- [92] GRACE, P. M.; STRAND, K. A.; GALER, E. L.; MAIER, S. F.; WATKINS, L. R. - **MicroRNA-124 and microRNA-146a both attenuate persistent neuropathic pain induced by morphine in male rats.** *Brain Res.* 1692 (2018) 9-11.
- [93] FAVEREAUX, A.; THOUMINE, O.; BOUALI-BENAZZOUZ, R.; ROQUES, V.; PAPON, M. A.; SALAM, S. A.; DRUTEL, G.; LÉGER, C.; CALAS, A.; NAGY, F.; LANDRY, M. - **Bidirectional integrative regulation of Cav1.2 calcium channel by microRNA miR-103: role in pain.** *Embo j.* 30 (2011) 3830-41.
- [94] VIDELOCK, ELIZABETH & MAHURKAR, SWAPNA & ILIOPOULOS, DIMITRIOS & POTHOUKAKIS, CHARALABOS & MAYER, EMERAN & CHANG, LIN. - **Dysregulation of the Long-Noncoding RNA, Ghrlos, in Irritable Bowel Syndrome.** *Gastroenterology.* 152 (2017) S722.
- [95] ZHANG, Y.; ZHANG, H.; ZHANG, W.; ZHANG, Y.; WANG, W.; NIE, L. - **LncRNA XIST modulates 5-hydroxytryptophan-induced visceral hypersensitivity by epigenetic silencing of the SERT gene in mice with diarrhea-predominant IBS.** *Cell Signal.* 73 (2020) 109674.
- [96] CHAO, G.; WANG, Z.; YANG, Y.; ZHANG, S. - **LncRNA H19 as a Competing Endogenous RNA to Regulate AQP Expression in the Intestinal Barrier of IBS-D Patients.** *Front Physiol.* 11 (2020) 602076.
- [97] CHAO, G.; ZHANG, S. - **Aquaporins 1, 3 and 8 expression and cytokines in irritable bowel syndrome rats' colon via cAMP-PKA pathway.** *Int J Clin Exp Pathol.* 11 (2018) 4117-4123.

- [98] ZHANG, W.; XU, Y.; CHEN, Z.; XU, Z.; XU, H. - **Knockdown of aquaporin 3 is involved in intestinal barrier integrity impairment.** FEBS Lett. 585 (2011) 3113-9.
- [99] HORSTHEMKE, BERNHARD - **A critical view on transgenerational epigenetic inheritance in humans.** Nature Communications. 9 (2018) 2041-1723.
- [100] DANCHIN, É; CHARMANTIER, A.; CHAMPAGNE, F. A.; MESOUDI, A.; PUJOL, B.; BLANCHET, S. - **Beyond DNA: integrating inclusive inheritance into an extended theory of evolution.** Nat Rev Genet. 12 (2011) 475-86.
- [101] SOARES, R. L. - **Irritable bowel syndrome: a clinical review.** World J Gastroenterol. 20 (2014) 12144-60.
- [102] DROSSMAN, D. A.; THOMPSON, W. G. - **The irritable bowel syndrome: review and a graduated multicomponent treatment approach.** Ann Intern Med. 116 (1992) 1009-16.
- [103] OŚWIĘCIMSKA, J.; SZYMLAK, A.; ROCZNIK, W.; GIRCZYS-POŁEDNIOK, K.; KWIECIEŃ, J. - **New insights into the pathogenesis and treatment of irritable bowel syndrome.** Adv Med Sci. 62 (2017) 17-30.
- [104] CUOMO, R.; ANDREOZZI, P.; ZITO, F. P.; PASSANANTI, V.; DE CARLO, G.; SARNELLI, G. - **Irritable bowel syndrome and food interaction.** World J Gastroenterol. 20 (2014) 8837-45.
- [105] YANG, J.; DENG, Y.; CHU, H.; CONG, Y.; ZHAO, J.; POHL, D.; MISSELWITZ, B.; FRIED, M.; DAI, N.; FOX, M. - **Prevalence and presentation of lactose intolerance and effects on dairy product intake in healthy subjects and patients with irritable bowel syndrome.** Clin Gastroenterol Hepatol. 11 (2013) 262-268.e1.
- [106] SHAHBAZKHANI, B.; SADEGHI, A.; MALEKZADEH, R.; KHATAVI, F.; ETEMADI, M.; KALANTRI, E.; ROSTAMI-NEJAD, M.; ROSTAMI, K. - **Non-Celiac Gluten Sensitivity Has Narrowed the Spectrum of Irritable Bowel Syndrome: A Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial.** Nutrients. 7 (2015) 4542-54.
- [107] BARBARO, M. R.; CREMON, C.; STANGHELLINI, V.; BARBARA, G. - **Recent advances in understanding non-celiac gluten sensitivity.** F1000Res. 7 (2018)
- [108] PEDERSEN, N.; ANDERSEN, N. N.; VÉGH, Z.; JENSEN, L.; ANKERSEN, D. V.; FELDING, M.; SIMONSEN, M. H.; BURISCH, J.; MUNKHOLM, P. - **Ehealth: low FODMAP diet vs Lactobacillus rhamnosus GG in irritable bowel syndrome.** World J Gastroenterol. 20 (2014) 16215-26.
- [109] HALMOS, E. P.; POWER, V. A.; SHEPHERD, S. J.; GIBSON, P. R.; MUIR, J. G. - **A diet low in FODMAPs reduces symptoms of irritable bowel syndrome.** Gastroenterology. 146 (2014) 67-75.e5.
- [110] WALKER, A. W.; INCE, J.; DUNCAN, S. H.; WEBSTER, L. M.; HOLTROP, G.; ZE, X.; BROWN, D.; STARES, M. D.; SCOTT, P.; BERGERAT, A.; LOUIS, P.; MCINTOSH, F.; JOHNSTONE, A. M.; LOBLEY, G. E.; PARKHILL, J.; FLINT, H. J. - **Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota.** Isme j. 5 (2011) 220-30.
- [111] DEN BESTEN, G.; VAN EUNEN, K.; GROEN, A. K.; VENEMA, K.; REIJNGOUD, D. J.; BAKKER, B. M. - **The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism.** J Lipid Res. 54 (2013) 2325-40.



- [112] TAN, J.; MCKENZIE, C.; POTAMITIS, M.; THORBURN, A. N.; MACKAY, C. R.; MACIA, L. - **The role of short-chain fatty acids in health and disease.** *Adv Immunol.* 121 (2014) 91-119.
- [113] MCFARLAND, L. V.; EVANS, C. T.; GOLDSTEIN, E. J. C. - **Strain-Specificity and Disease-Specificity of Probiotic Efficacy: A Systematic Review and Meta-Analysis.** *Front Med (Lausanne).* 5 (2018) 124.
- [114] LEWIS, E. D.; ANTONY, J. M.; CROWLEY, D. C.; PIANO, A.; BHARDWAJ, R.; TOMPKINS, T. A.; EVANS, M. - **Efficacy of Lactobacillus paracasei HA-196 and Bifidobacterium longum R0175 in Alleviating Symptoms of Irritable Bowel Syndrome (IBS): A Randomized, Placebo-Controlled Study.** *Nutrients.* 12 (2020)
- [115] MARTONI, C. J.; SRIVASTAVA, S.; LEYER, G. J. - **Lactobacillus acidophilus DDS-I and Bifidobacterium lactis UABla-12 Improve Abdominal Pain Severity and Symptomology in Irritable Bowel Syndrome: Randomized Controlled Trial.** *Nutrients.* 12 (2020)
- [116] SKRZYDŁO-RADOMAŃSKA, B.; PROZOROW-KRÓL, B.; CICHOŻ-LACH, H.; MAJSIAK, E.; BIERŁA, J. B.; KANAREK, E.; SOWIŃSKA, A.; CUKROWSKA, B. - **The Effectiveness and Safety of Multi-Strain Probiotic Preparation in Patients with Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome: A Randomized Controlled Study.** *Nutrients.* 13 (2021)
- [117] LEEUWENDAAL, N. K.; STANTON, C.; O'TOOLE, P. W.; BERESFORD, T. P. - **Fermented Foods, Health and the Gut Microbiome.** *Nutrients.* 14 (2022)
- [118] TAYLOR, B. C.; LEJZEROWICZ, F.; POIREL, M.; SHAFFER, J. P.; JIANG, L.; AKSENOV, A.; LITWIN, N.; HUMPHREY, G.; MARTINO, C.; MILLER-MONTGOMERY, S.; DORRESTEIN, P. C.; VEIGA, P.; SONG, S. J.; McDONALD, D.; DERRIEN, M.; KNIGHT, R. - **Consumption of Fermented Foods Is Associated with Systematic Differences in the Gut Microbiome and Metabolome.** *mSystems.* 5 (2020)
- [119] WASTYK, H. C.; FRAGIADAKIS, G. K.; PERELMAN, D.; DAHAN, D.; MERRILL, B. D.; YU, F. B.; TOPF, M.; GONZALEZ, C. G.; VAN TREUREN, W.; HAN, S.; ROBINSON, J. L.; ELIAS, J. E.; SONNENBURG, E. D.; GARDNER, C. D.; SONNENBURG, J. L. - **Gut-microbiota-targeted diets modulate human immune status.** *Cell.* 184 (2021) 4137-4153.e14.
- [120] CHLEBICZ-WÓJCIK, A.; ŚLIŻEWSKA, K. - **Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics in the Irritable Bowel Syndrome Treatment: A Review.** *Biomolecules.* 11 (2021)
- [121] FORD, A. C.; MOAYYEDI, P.; CHEY, W. D.; HARRIS, L. A.; LACY, B. E.; SAITO, Y. A.; QUIGLEY, E. M. M. - **American College of Gastroenterology Monograph on Management of Irritable Bowel Syndrome.** *Am J Gastroenterol.* 113 (2018) 1-18.
- [122] JOHANNESSON, E.; RINGSTRÖM, G.; ABRAHAMSSON, H.; SADIK, R. - **Intervention to increase physical activity in irritable bowel syndrome shows long-term positive effects.** *World J Gastroenterol.* 21 (2015) 600-8.
- [123] VILLORIA, A.; SERRA, J.; AZPIROZ, F.; MALAGELADA, J. R. - **Physical activity and intestinal gas clearance in patients with bloating.** *Am J Gastroenterol.* 101 (2006) 2552-7.
- [124] HAJJZADEH MALEKI, B.; TARTIBIAN, B.; MOOREN, F. C.; FITZGERALD, L. Z.; KRÜGER, K.; CHEHRAZI, M.; MALANDISH, A. - **Low-to-moderate intensity aerobic exercise training modulates irritable bowel syndrome through antioxidative and inflammatory mechanisms in women: Results of a randomized controlled trial.** *Cytokine.* 102 (2018) 18-25.

- [125] AYA, V.; FLÓREZ, A.; PEREZ, L.; RAMÍREZ, J. D. - **Association between physical activity and changes in intestinal microbiota composition: A systematic review.** PLoS One. 16 (2021) e0247039.
- [126] CATALDI, S.; BONAVOLONTÀ, V.; POLI, L.; CLEMENTE, F. M.; DE CANDIA, M.; CARVUTTO, R.; SILVA, A. F.; BADICU, G.; GRECO, G.; FISCHETTI, F. - **The Relationship between Physical Activity, Physical Exercise, and Human Gut Microbiota in Healthy and Unhealthy Subjects: A Systematic Review.** Biology (Basel). 11 (2022)
- [127] PATEL, A.; HASAK, S.; CASSELL, B.; CIORBA, M. A.; VIVIO, E. E.; KUMAR, M.; GYAWALI, C. P.; SAYUK, G. S. - **Effects of disturbed sleep on gastrointestinal and somatic pain symptoms in irritable bowel syndrome.** Aliment Pharmacol Ther. 44 (2016) 246-58.
- [128] YANG, P. L.; BURR, R. L.; DE LA IGLESIA, H. O.; BUCHANAN, D. T.; WARD, T. M.; LANDIS, C. A.; HEITKEMPER, M. M. - **Associations between chronotype, social jetlag, and weekday sleep in women with irritable bowel syndrome.** Chronobiol Int. 38 (2021) 742-752.
- [129] ROTEM, A. Y.; SPERBER, A. D.; KRUGLIAK, P.; FREIDMAN, B.; TAL, A.; TARASIUK, A. - **Polysomnographic and actigraphic evidence of sleep fragmentation in patients with irritable bowel syndrome.** Sleep. 26 (2003) 747-52.
- [130] GROVER, M.; KOLLA, B. P.; PAMARTHY, R.; MANSUKHANI, M. P.; BREEN-LYLES, M.; HE, J. P.; MERIKANGAS, K. R. - **Psychological, physical, and sleep comorbidities and functional impairment in irritable bowel syndrome: Results from a national survey of U.S. adults.** PLoS One. 16 (2021) e0245323.
- [131] MATENCHUK, B. A.; MANDHANE, P. J.; KOZYRSKYJ, A. L. - **Sleep, circadian rhythm, and gut microbiota.** Sleep Med Rev. 53 (2020) 101340.
- [132] SUGAYA, N.; IZAWA, S.; SAITO, K.; SHIROTSUKI, K.; NOMURA, S.; SHIMADA, H. - **Effect of prolonged stress on the adrenal hormones of individuals with irritable bowel syndrome.** Biopsychosoc Med. 9 (2015) 4.
- [133] FUKUDO, S. - **Stress and visceral pain: focusing on irritable bowel syndrome.** Pain. 154 Suppl 1 (2013) S63-s70.
- [134] GAYLORD, S. A.; PALSSON, O. S.; GARLAND, E. L.; FAUROT, K. R.; COBLE, R. S.; MANN, J. D.; FREY, W.; LENIEK, K.; WHITEHEAD, W. E. - **Mindfulness training reduces the severity of irritable bowel syndrome in women: results of a randomized controlled trial.** Am J Gastroenterol. 106 (2011) 1678-88.
- [135] PALSSON, O. S.; DROSSMAN, D. A. - **Psychiatric and psychological dysfunction in irritable bowel syndrome and the role of psychological treatments.** Gastroenterol Clin North Am. 34 (2005) 281-303.
- [136] KENNEDY, T.; JONES, R.; DARNLEY, S.; SEED, P.; WESSELY, S.; CHALDER, T. - **Cognitive behaviour therapy in addition to antispasmodic treatment for irritable bowel syndrome in primary care: randomised controlled trial.** Bmj. 331 (2005) 435.
- [137] ZIJDENBOS, I. L.; DE WIT, N. J.; VAN DER HEIJDEN, G. J.; RUBIN, G.; QUARTERO, A. O. - **Psychological treatments for the management of irritable bowel syndrome.** Cochrane Database Syst Rev. (2009) Cd006442.
- [138] BRANDT, L. J.; CHEY, W. D.; FOX-ORENSTEIN, A. E.; SCHILLER, L. R.; SCHOENFELD, P. S.; SPIEGEL, B. M.; TALLEY, N. J.; QUIGLEY, E. M. - **An evidence-based position statement**

**on the management of irritable bowel syndrome.** Am J Gastroenterol. 104 Suppl 1 (2009) S1-35.

- [139] SHAW, G.; SRIVASTAVA, E. D.; SADLER, M.; SWANN, P.; JAMES, J. Y.; RHODES, J. - **Stress management for irritable bowel syndrome: a controlled trial.** Digestion. 50 (1991) 36-42.
- [140] FLIK, C. E.; BAKKER, L.; LAAN, W.; VAN ROOD, Y. R.; SMOUT, A. J.; DE WIT, N. J. - **Systematic review: The placebo effect of psychological interventions in the treatment of irritable bowel syndrome.** World J Gastroenterol. 23 (2017) 2223-2233.
- [141] TALLEY, N. J. - **Pharmacologic therapy for the irritable bowel syndrome.** Am J Gastroenterol. 98 (2003) 750-8.
- [142] NEE, J.; BALLOU, S.; KELLEY, J. M.; KAPTCHUK, T. J.; HIRSCH, W.; KATON, J.; CHENG, V.; RANGAN, V.; LEMBO, A.; ITURRINO, J. - **Peppermint Oil Treatment for Irritable Bowel Syndrome: A Randomized Placebo-Controlled Trial.** Am J Gastroenterol. 116 (2021) 2279-2285.
- [143] FORD, A. C.; TALLEY, N. J.; SPIEGEL, B. M.; FOX-ORENSTEIN, A. E.; SCHILLER, L.; QUIGLEY, E. M.; MOAYYEDI, P. - **Effect of fibre, antispasmodics, and peppermint oil in the treatment of irritable bowel syndrome: systematic review and meta-analysis.** Bmj. 337 (2008) a2313.
- [144] PIMENTEL, M.; LEMBO, A.; CHEY, W. D.; ZAKKO, S.; RINGEL, Y.; YU, J.; MAREYA, S. M.; SHAW, A. L.; BORTEY, E.; FORBES, W. P. - **Rifaximin therapy for patients with irritable bowel syndrome without constipation.** N Engl J Med. 364 (2011) 22-32.
- [145] BRENNER, D. M.; MOELLER, M. J.; CHEY, W. D.; SCHOENFELD, P. S. - **The utility of probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome: a systematic review.** Am J Gastroenterol. 104 (2009) 1033-49; quiz 1050.
- [146] NIEDZIELIN, K.; KORDECKI, H.; BIRKENFELD, B. - **A controlled, double-blind, randomized study on the efficacy of Lactobacillus plantarum 299V in patients with irritable bowel syndrome.** Eur J Gastroenterol Hepatol. 13 (2001) 1143-7.
- [147] YUAN, F.; NI, H.; ASCHE, C. V.; KIM, M.; WALAYAT, S.; REN, J. - **Efficacy of Bifidobacterium infantis 35624 in patients with irritable bowel syndrome: a meta-analysis.** Curr Med Res Opin. 33 (2017) 1191-1197.
- [148] ALLEN, A. P.; CLARKE, G.; CRYAN, J. F.; QUIGLEY, E. M. M.; DINAN, T. G. - **Bifidobacterium infantis 35624 and other probiotics in the management of irritable bowel syndrome. Strain specificity, symptoms, and mechanisms.** Curr Med Res Opin. 33 (2017) 1349-1351.
- [149] GU, Y.; WANG, C.; QIN, X.; ZHOU, B.; LIU, X.; LIU, T.; XIE, R.; LIU, J.; WANG, B.; CAO, H. - **Saccharomyces boulardii, a yeast probiotic, inhibits gut motility through upregulating intestinal serotonin transporter and modulating gut microbiota.** Pharmacol Res. 181 (2022) 106291.
- [150] YOON, J. S.; SOHN, W.; LEE, O. Y.; LEE, S. P.; LEE, K. N.; JUN, D. W.; LEE, H. L.; YOON, B. C.; CHOI, H. S.; CHUNG, W. S.; SEO, J. G. - **Effect of multispecies probiotics on irritable bowel syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial.** J Gastroenterol Hepatol. 29 (2014) 52-9.

- [151] LIU, R.; STALLER, K. - **Update on Eluxadoline for the Treatment of Irritable Bowel Syndrome with Diarrhea: Patient Selection and Perspectives.** Drug Des Devel Ther. 14 (2020) 1391-1400.
- [152] LEMBO, A.; PIMENTEL, M.; RAO, S. S.; SCHOENFELD, P.; CASH, B.; WEINSTOCK, L. B.; PATERSON, C.; BORTEY, E.; FORBES, W. P. - **Repeat Treatment With Rifaximin Is Safe and Effective in Patients With Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome.** Gastroenterology. 151 (2016) 1113-1121.
- [153] MEARIN, F., CIRIZA, C., MÍNGUEZ, M., REY, E., MASCORT, J., PEÑA, E., CAÑONES, P., JÚDEZ, J. - **Clinical Practice Guideline: irritable bowel syndrome with constipation and functional constipation in the adult.** Revista Española de Enfermedades Digestivas. 108 (2016) 332-363
- [154] RAO, S.; LEMBO, A. J.; SHIFF, S. J.; LAVINS, B. J.; CURRIE, M. G.; JIA, X. D.; SHI, K.; MACDOUGALL, J. E.; SHAO, J. Z.; ENG, P.; FOX, S. M.; SCHNEIER, H. A.; KURTZ, C. B.; JOHNSTON, J. M. - **A 12-week, randomized, controlled trial with a 4-week randomized withdrawal period to evaluate the efficacy and safety of linaclotide in irritable bowel syndrome with constipation.** Am J Gastroenterol. 107 (2012) 1714-24; quiz p.1725.
- [155] CHEY, W. D.; DROSSMAN, D. A.; JOHANSON, J. F.; SCOTT, C.; PANAS, R. M.; UENO, R. - **Safety and patient outcomes with lubiprostone for up to 52 weeks in patients with irritable bowel syndrome with constipation.** Aliment Pharmacol Ther. 35 (2012) 587-99.
- [156] LUNSFORD, T. N.; HARRIS, L. A. - **Lubiprostone: evaluation of the newest medication for the treatment of adult women with constipation-predominant irritable bowel syndrome.** Int J Womens Health. 2 (2010) 361-74.
- [157] QUIGLEY, E. M. - **Prucalopride: safety, efficacy and potential applications.** Therap Adv Gastroenterol. 5 (2012) 23-30.
- [158] AL-SADI, R.; ENGERS, J.; ABDULQADIR, R. - **Talk about micromanaging! Role of microRNAs in intestinal barrier function.** Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 319 (2020) G170-g174.
- [159] FORTEA, M.; ALBERT-BAYO, M.; ABRIL-GIL, M.; GANDA MALL, J. P.; SERRA-RUIZ, X.; HENAO-PAEZ, A.; EXPÓSITO, E.; GONZÁLEZ-CASTRO, A. M.; GUAGNOZZI, D.; LOBO, B.; ALONSO-COTONER, C.; SANTOS, J. - **Present and Future Therapeutic Approaches to Barrier Dysfunction.** Front Nutr. 8 (2021) 718093.
- [160] NIE, J.; HASHINO, E. - **Organoid technologies meet genome engineering.** EMBO Rep. 18 (2017) 367-376.
- [161] BORDONI, L.; GABBIANELLI, R. - **Primers on nutrigenetics and nutri(epi)genomics: Origins and development of precision nutrition.** Biochimie. 160 (2019) 156-171.
- [162] BOUCHARD, L.; RABASA-LHORET, R.; FARAJ, M.; LAVOIE, M. E.; MILL, J.; PÉRUSSE, L.; VOHL, M. C. - **Differential epigenomic and transcriptomic responses in subcutaneous adipose tissue between low and high responders to caloric restriction.** Am J Clin Nutr. 91 (2010) 309-20.
- [163] ASIF, S.; MORROW, N. M.; MULVIHILL, E. E.; KIM, K. H. - **Understanding Dietary Intervention-Mediated Epigenetic Modifications in Metabolic Diseases.** Front Genet. 11 (2020) 590369.

- [164] MAHURKAR-JOSHI, S.; CHANG, L. - **Epigenetic Mechanisms in Irritable Bowel Syndrome**. *Front Psychiatry*. 11 (2020) 805.
- [165] VAIPOULOU, A.; KARAMANOLIS, G.; PSALTOPOULOU, T.; KARATZIAS, G.; GAZOULI, M. - **Molecular basis of the irritable bowel syndrome**. *World J Gastroenterol*. 20 (2014) 376-83.
- [166] CHOO, C.; MAHURKAR-JOSHI, S.; DONG, T. S.; LENHART, A.; LAGISHETTY, V.; JACOBS, J. P.; LABUS, J. S.; JAFFE, N.; MAYER, E. A.; CHANG, L. - **Colonic mucosal microbiota is associated with bowel habit subtype and abdominal pain in patients with irritable bowel syndrome**. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 323 (2022) G134-g143.
- [167] MAZZAWI, T. - **Gut Microbiota Manipulation in Irritable Bowel Syndrome**. *Microorganisms*. 10 (2022)
- [168] BARBARA, G.; ZECCHI, L.; BARBARO, R.; CREMON, C.; BELLACOSA, L.; MARCELLINI, M.; DE GIORGIO, R.; CORINALDESI, R.; STANGHELLINI, V. - **Mucosal permeability and immune activation as potential therapeutic targets of probiotics in irritable bowel syndrome**. *J Clin Gastroenterol*. 46 Suppl (2012) S52-5.
- [169] KHURSHID, M.; ASLAM, B.; NISAR, M. A.; AKBAR, R.; RAHMAN, H.; KHAN, A. A.; RASOOL, M. H. - **Bacterial munch for infants: potential pediatric therapeutic interventions of probiotics**. *Future Microbiol*. 10 (2015) 1881-95.
- [170] KWOJI, I. D.; AIYEGORO, O. A.; OKPEKU, M.; ADELEKE, M. A. - **Multi-Strain Probiotics: Synergy among Isolates Enhances Biological Activities**. *Biology (Basel)*. 10 (2021)
- [171] LYRA, A.; HILLILÄ, M.; HUTTUNEN, T.; MÄNNIKKÖ, S.; TAALIKKA, M.; TENNILÄ, J.; TARPILA, A.; LAHTINEN, S.; OUWEHAND, A. C.; VEIJOLA, L. - **Irritable bowel syndrome symptom severity improves equally with probiotic and placebo**. *World J Gastroenterol*. 22 (2016) 10631-10642.
- [172] CANI, P. D.; DEPOMMIER, C.; DERRIEN, M.; EVERARD, A.; DE VOS, W. M. - **Author Correction: Akkermansia muciniphila: paradigm for next-generation beneficial microorganisms**. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. (2022)
- [173] CRUZ-AGULIAR, R. M.; WANTIA, N.; CLAVEL, T.; VEHRESCHILD, M.JGT; BUCH, T.; BAJBOUJ, M.; HALLER, D.; BUSCH, D.; SCHMID, R. M.; STEIN-THOERINGER, C. K. - **An Open-Labeled Study on Fecal Microbiota Transfer in Irritable Bowel Syndrome Patients Reveals Improvement in Abdominal Pain Associated with the Relative Abundance of Akkermansia Muciniphila**. *Digestion*. 100 (2019) 127-138.
- [174] MACCHIONE, I. G.; LOPETUSO, L. R.; IANIRO, G.; NAPOLI, M.; GIBIINO, G.; RIZZATTI, G.; PETITO, V.; GASBARRINI, A.; SCALDAFERRI, F. - **Akkermansia muciniphila: key player in metabolic and gastrointestinal disorders**. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 23 (2019) 8075-8083.
- [175] EL-SALHY, M. - **Irritable bowel syndrome: diagnosis and pathogenesis**. *World J Gastroenterol*. 18 (2012) 5151-63.
- [176] EL-SALHY, M.; LOMHOLT-BECK, B.; HAUSKEN, T. - **Chromogranin A as a possible tool in the diagnosis of irritable bowel syndrome**. *Scand J Gastroenterol*. 45 (2010) 1435-9.

- [177] EL-SALHY, M.; WENDELBO, I. H.; GUNDERSEN, D. - **Reduced chromogranin A cell density in the ileum of patients with irritable bowel syndrome.** Mol Med Rep. 7 (2013) 1241-4.
- [178] MUJAGIC, Z., TIGCHELAAR, E. F., ZHERNAKOVA, A., LUDWIG, T., RAMIRO-GARCIA, J., ET AL. - **A novel biomarker panel for irritable bowel syndrome and the application in the general population.** Scientific Reports. 6 (2016) 26420.
- [179] LEMBO, A. J.; NERI, B.; TOLLEY, J.; BARKEN, D.; CARROLL, S.; PAN, H. - **Use of serum biomarkers in a diagnostic test for irritable bowel syndrome.** Aliment Pharmacol Ther. 29 (2009) 834-42.