

# **O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson**

**Nuno Filipe da Silva Freire**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

**Medicina**

(mestrado integrado)

Orientadora: Prof. Doutora Carla Pais Fonseca

**Abril de 2022**

# O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

## **Agradecimentos**

Aos meus pais e à minha irmã, por acreditarem em mim e permitirem que esta longa caminhada fosse possível.

À Inês, por toda a compreensão, carinho e apoio em todos os momentos.

À Prof. Doutora Carla Fonseca, pela sua disponibilidade, espírito crítico e rigor científico que me permitiram aprender e desenvolver o melhor trabalho possível.

# O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

### **Declaração de integridade**

Eu, Nuno Filipe da Silva Freire, que abaixo assino, estudante com número de inscrição 37456 do curso de Medicina da Faculdade de Ciências da Saúde, declaro ter desenvolvido o presente trabalho e elaborado o presente texto em total consonância com o **Código de Integridade da Universidade da Beira Interior**.

Mais concretamente afirmo não ter incorrido em qualquer das variedades de Fraude Académica, e que aqui declaro conhecer, e que em particular atendi à exigida referenciação de frases, extratos, imagens e outras formas de trabalho intelectual, e assim assumo na íntegra as responsabilidades da autoria.

Universidade da Beira Interior, Covilhã 29/04/2022

*Nuno Filipe da Silva Freire*

# O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

## **Resumo**

O eixo intestino-cérebro tem sido descrito como importante para várias funções cerebrais e tem sido o foco de diversos estudos nos últimos anos na área das doenças neurodegenerativas. Na doença de Parkinson, as manifestações gastrointestinais podem anteceder os sintomas motores em vários anos e tem sido demonstrada a existência de um desequilíbrio da microbiota intestinal em doentes afetados por esta patologia. A abundância relativa de determinados géneros bacterianos assim como o aumento da permeabilidade e da inflamação intestinal encontrada têm reforçado a hipótese de se encontrar a etiopatogenia da doença no estudo das comunidades microbianas que habitam no intestino. A descoberta de biomarcadores fecais pode permitir um diagnóstico mais precoce da doença e novas terapias dirigidas à regulação da microbiota intestinal podem ser a chave do controlo de sintomas motores e não motores da doença. O estudo do eixo intestino-cérebro e a intervenção na microbiota intestinal podem ser possibilidades no futuro no que toca à gestão da doença de Parkinson e de outras doenças neurodegenerativas, que até à data não possuem tratamentos que possam retardar ou deter a sua progressão.

## **Palavras-chave**

Eixo intestino-cérebro; disbiose intestinal; doença de Parkinson; microbiota intestinal

# O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

## **Abstract**

The gut-brain axis has been described as important for various brain functions and has been, recently, the focus of several studies in neurodegenerative diseases. In Parkinson's disease, gastrointestinal manifestations can anticipate motor symptoms in several years and an imbalance of the intestinal microbiota has been demonstrated in patients affected by this pathology. The relative abundance of certain bacterial genera as well as the increased permeability and intestinal inflammation found have reinforced the hypothesis of finding the etiopathogenesis of the disease in the study of microbial communities inhabiting the intestine. The discovery of fecal biomarkers may allow an earlier diagnosis of the disease and new therapies aimed at regulating the intestinal microbiota may be the key to control motor and non-motor symptoms of the disease. The study of the gut-brain axis and the intervention in the intestinal microbiota may be possibilities in the future to the management of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases, which do not have treatments that can slow or stop their progression yet.

## **Keywords**

Gut-brain axis; gut dysbiosis; intestinal microbiota; Parkinson's disease

# O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

# Índice

Resumo .....	vii
Lista de Figuras .....	xiii
Lista de Abreviaturas.....	xv
1. Introdução.....	1
2. Objetivos .....	5
3. Metodologia.....	7
4. A microbiota intestinal em indivíduos saudáveis .....	9
5. Eixo intestino-cérebro.....	13
5.1. Vias de comunicação .....	13
5.2. Hipótese de Braak.....	14
6. Caracterização da microbiota em doentes com Parkinson .....	17
6.1. Composição bacteriana: função e relação com a severidade clínica .....	18
7. Relação entre a microbiota e a etiologia da doença de Parkinson.....	21
7.1 Permeabilidade intestinal.....	22
7.2. Papel da inflamação.....	25
7.3. Sistema Nervoso Central: o destino final?.....	27
8. Microbiota intestinal como marcador de diagnóstico .....	29
9. Possibilidades terapêuticas: foco na microbiota intestinal.....	31
9.1. Probióticos e Prebióticos .....	31
9.2. Transplante de microbiota fecal .....	33
9.3. Ginseng vermelho coreano ( <i>Panax ginseng</i> ) e FLZ .....	34
10. Conclusão .....	35
11. Referências Bibliográficas .....	37
Apêndice I.....	49

# O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

## Lista de Figuras

Figura 1 – Os mecanismos que podem ser responsáveis pela degeneração dos neurónios dopaminérgicos que ocorre na DP. ....	2
Figura 2 – Alvos terapêuticos na DP. ....	3
Figura 3 – Representação gráfica da abundância filogenética ao nível do filo e género da microbiota intestinal de indivíduos saudáveis .....	10
Figura 4 - Representação esquemática dos seis estadios da DP sugeridos por Braak e colaboradores. ....	15
Figura 5 – Representação ilustrativa da importância da fibra alimentar na preservação da integridade da mucosa intestinal .....	22
Figura 6 - A BMAA (beta-N-metilamino-L-alanina) é uma toxina microbiana que pode provocar a redução das bactérias filamentosas segmentadas, levando à diminuição da integridade da barreira intestinal e indução de um estado inflamatório com um aumento da agregação da $\alpha$ -sinucleína, que pode progredir até ao SNC.....	24
Figura 7 - Representação esquemática do efeito que a espécie <i>Proteus mirabilis</i> pode ter na indução da DP em murganhos .....	26
Figura 8 – O reconhecimento por NLRP6 pode ser importante na limitação da colonização intestinal pela espécie <i>Akkermansia muciniphila</i> . ....	27

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

## Lista de Abreviaturas

6-OHDA	6-hidroxidopamina
AGCC	Ácidos gordos de cadeia curta
AUC	Área abaixo da curva, do inglês <i>Area Under the Curve</i>
AMS	Atrofia Multissistémica
BDNF	Fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês <i>Brain-Derived Neurotrophic Factor</i>
DA	Doença de Alzheimer
DP	Doença de Parkinson
GABA	Ácido gama-aminobutírico, do inglês <i>Gamma-AminoButyric Acid</i>
GBA	Glucocerebrosidase, do inglês <i>Glucosylceramidase Beta</i>
GFAP	Proteína ácida fibrilar glial, do inglês <i>Glial Fibrillary Acidic Protein</i>
H&Y	Escala Hoehn e Yahr modificada
IL	Interleucina
LPS	Lipopolissacarídeo
MDS	Sociedade das Doenças do Movimento, do inglês <i>Movement Disorders Society</i>
MMSE	Exame Breve do Estado Mental, do inglês <i>Mini-Mental State Examination</i>
MoCA	Avaliação Cognitiva de Montreal, do inglês <i>Montreal Cognitive Assessment</i>
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetraidropiridina, do inglês <i>1-Methyl-4-Phenyl-1,2,3,6-TetrahydroPyridine</i>
MyD88	Fator de diferenciação mielóide 88, do inglês <i>Myeloid Differentiation factor 88</i>
NF-κB	Fator de transcrição nuclear κB, do inglês <i>Nuclear transcription Factor κB</i>
NGF	Fator de crescimento nervoso, do inglês <i>Nerve Growth Factor</i>

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

NLRP	Proteína recetora do tipo Nod, do inglês <i>Nod-Like Receptor Protein</i>
NMSS	Escala de sintomas não motores, do inglês <i>Non Motor Symptoms Scale</i>
PDQ-39	Questionário de 39 itens para a doença de Parkinson, do inglês <i>Parkinson Disease's Questionnaire – 39 items</i>
PI3K	Cinase dos fosfolípidos de inositol na posição 3, do inglês <i>PhosphoInositide 3-Kinase</i>
PINK	Cinase induzida por PTEN, do inglês <i>PTEN-INDuced Kinase</i>
PRKN	Parkina, do inglês <i>PaRKiN</i>
REM	Movimento rápido dos olhos, do inglês <i>Rapid Eye Movement</i>
SNC	Sistema nervoso central
SNCA	Alfa sinucleína, do inglês <i>SyNuClein Alpha</i>
SNE	Sistema nervoso entérico
SOX	Fator de transcrição SRY-Box, do inglês <i>SRY-BOX transcription factor</i>
TBK	Cinase de ligação à TANK, do inglês <i>TANK-Binding Kinase</i>
TLR	Recetor do tipo Toll, do inglês <i>Toll-Like Receptor</i>
TMF	Transplante de microbiota fecal
TNF	Fator de necrose tumoral, do inglês <i>Tumor Necrosis Factor</i>
UPDRS	Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson, do inglês <i>Unified Parkinson's Disease Rating Scale</i>
ZO-1	Proteína da zónula de oclusão-1, do inglês <i>Zonula Occludens-1</i>

## 1. Introdução

A “Paralisia Agitante” foi a primeira designação feita por James Parkinson, médico inglês, em 1817, para o que considerava ser uma mesma doença observada em seis doentes, caracterizada pelo aparecimento progressivo de sintomas motores, nomeadamente tremor em repouso, bradicinesia, acinesia e alterações na marcha, e sintomas não motores, como a alterações do sono e a obstipação (1). Esta doença, que mais tarde viria a ser designada segundo o seu epónimo, é atualmente a segunda doença neurodegenerativa mais comum em todo o mundo (2).

A grande maioria dos casos da doença de Parkinson (DP) têm uma etiologia idiopática, havendo uma pequena percentagem, cerca de 5-10%, com transmissão hereditária (2). Até ao momento, as mutações monogénicas com mais relevo que se encontram descritas correspondem aos genes SNCA (do inglês *Synuclein Alpha*), LRRK2 (do inglês *Leucine-Rich Repeat Kinase 2*), PRKN (do inglês *Parkin*), PINK1 (do inglês *PTEN-Induced Kinase 1*) e GBA (do inglês *Glucosylceramidase Beta*) (3). A DP tem uma maior incidência em idade avançada, apesar de cerca de 25% dos doentes apresentarem idade inferior a 65 anos e 5-10% apresentarem menos de 50 anos (3).

As principais características da DP consistem na perda de neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra pars compacta* e a acumulação intracelular de agregados de uma proteína, a  $\alpha$ -sinucleína (2). A  $\alpha$ -sinucleína pode ter um papel tóxico no meio intracelular caso o seu enrolamento seja anormal, podendo dar origem a oligómeros, que se combinam progressivamente até formarem fibrilhas insolúveis (corpos de Lewy), que se acumulam no citosol. A formação de oligómeros tóxicos induz uma disfunção mitocondrial, inibe os sistemas de autofagia celulares e provoca uma ativação da microglia que perturba a proteostase da  $\alpha$ -sinucleína. Por sua vez, a disfunção mitocondrial acoplada ao stress oxidativo é responsável pela criação de espécies reativas de oxigénio que contribuem para o enrolamento anormal da  $\alpha$ -sinucleína e para a sua acumulação, inibindo os sistemas proteolíticos celulares. Este ciclo vicioso cria uma acumulação anómala de  $\alpha$ -sinucleína que pode ser transmitida para outros neurónios e, juntamente com a desregulação da homeostase do cálcio (originada pela disfunção mitocondrial), ser responsável pela morte neuronal. Estes mecanismos patológicos que podem estar implicados na lesão neuronal dopaminérgica são complexos e estão representados na Figura 1.

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

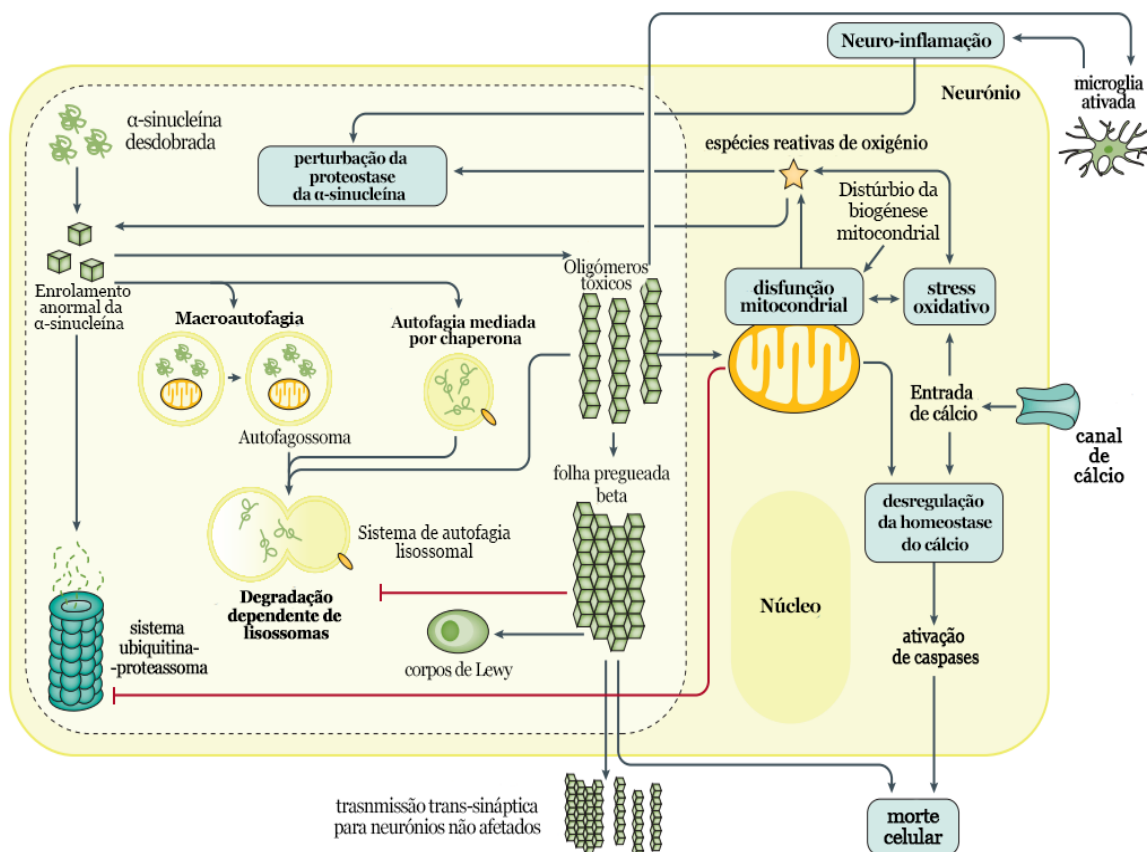


Figura 1 – Representação dos mecanismos que podem ser responsáveis pela degeneração dos neurónios dopaminérgicos que ocorre na DP: neuroinflamação, perturbação da proteostase da α-sinucleína, disfunção mitocondrial, stress oxidativo e desregulação da homeostase do cálcio (Adaptado de (2)).

Até ao momento, não existem biomarcadores específicos da doença, pelo que o diagnóstico da doença baseia-se em critérios clínicos que implicam a presença de bradicinesia associada a tremor de repouso e/ou rigidez (2). As manifestações não motoras também são características da doença e aparecem principalmente na fase pré-clínica, podendo anteceder os sintomas motores em vários anos (4,5). Contudo, são inespecíficas da DP, o que dificulta o reconhecimento da doença em estádios precoces. Dentro dos sintomas não motores destacam-se a obstipação (sintoma mais comum), os distúrbios do sono REM, a hiposmia e a depressão (3).

Os doentes com Parkinson podem ser subdivididos em subgrupos de acordo com os sintomas, podendo ter importância para o prognóstico, estudo da fisiopatologia e definição de tratamento personalizado (3). A caracterização das manifestações clínicas de cada doente pode ser realizada para avaliação do impacto na qualidade de vida recorrendo a escalas como a escala de sintomas não motores (NMSS, do inglês, *Non-Motor Symptom Scale*)(6) e o questionário PDQ-39 (do inglês *39 items - Parkinson's Disease Questionnaire*)(7), e a severidade da doença pode ser estratificada segundo a Escala Unificada de Avaliação da Doença de Parkinson (UPDRS, do inglês, *Unified Parkinson's Disease Rating Scale*)(8) e a escala de Hoehn e Yahr modificada (H&Y)(9).

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

O tratamento da DP disponível atualmente permite o controlo da sintomatologia segundo mecanismos de ação diferentes (Figura 2).

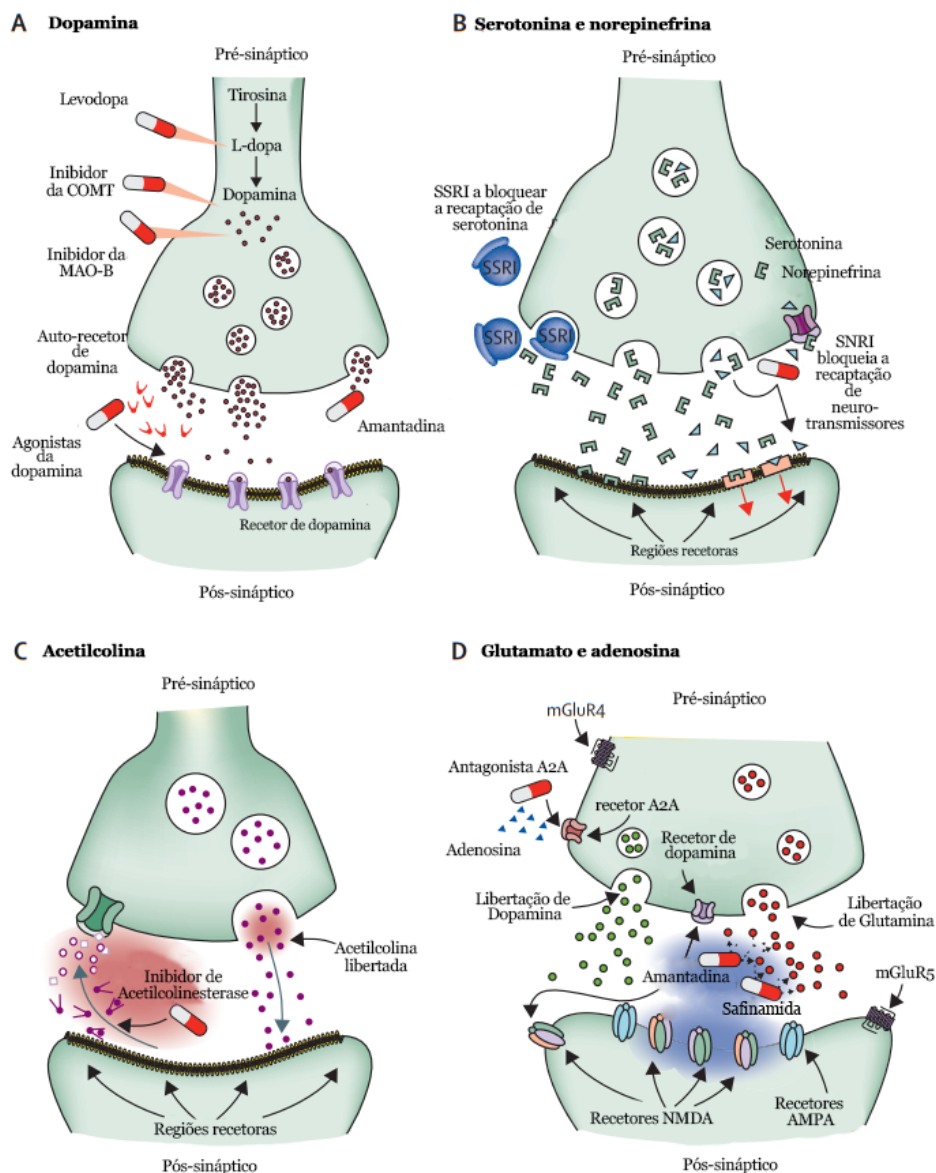


Figura 2 –Alvos terapêuticos na DP. **A-** A reposição dos níveis de dopamina pode ser feito com recurso a levodopa, inibidores da COMT (catecol O-metil-transferase), inibidores da MAO-B (monoaminoxidase do tipo B), agonistas dos receptores da dopamina e antagonistas dos receptores NMDA (Amantadina); **B, C e D:** A reposição de neurotransmissores como a serotonina, noradrenalina, acetilcolina, glutamato e adenosina também pode ser considerado em determinadas situações. AMPA=ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolepropionico; SNRI=inibidor da recaptação da serotonina e noradrenalina; SSRI=inibidor seletivo da recaptação da serotonina; NMDA=N-metil-D-aspartato (Adaptado de (3)).

A utilização de fármacos que compensem a depleção de dopamina que ocorre no estriado (por degeneração dos neurónios dopaminérgicos da *substantia nigra* que se projetam para esta região cerebral), é o modo mais eficaz para o controlo da sintomatologia motora, com especial destaque para o uso da levodopa (L-DOPA, abreviatura inglesa de L-3,4-dihidroxifenilalanina), precursor da dopamina, que

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

consegue atravessar a barreira hematoencefálica (ao contrário da dopamina). Contudo, existem variações inter-individuais na resposta farmacológica assim como o desenvolvimento de resistência ao seu tratamento (3). Apesar de se conseguir um bom controlo da doença nos primeiros anos, a tendência da DP é agravar progressivamente. Até ao momento, ainda não existe nenhum tratamento que permita estagnar ou retardar a progressão da doença (3).

A investigação que tem sido feita nos últimos anos tem tentado desvendar de que forma os processos neurodegenerativos se desenvolvem na DP idiopática e se existe a possibilidade da origem da doença ter um ponto de partida distante do sistema nervoso central (SNC). Braak e colaboradores (10,11) propuseram, com base em estudos realizados em doentes *post mortem*, que a DP pode ter origem no trato gastrointestinal, propagando-se progressivamente até ao SNC segundo um padrão específico. As manifestações gastrointestinais costumam acompanhar os sintomas motores da DP e, assim como a acumulação de  $\alpha$ -sinucleína na mucosa intestinal e no sistema nervoso entérico, podem desenvolver-se precocemente, o que reforça esta hipótese (12,13). Contudo, os resultados reportados noutros estudos não têm sido consensuais, sendo que numa parcela de doentes a patologia pode ter realmente uma origem fora do SNC, enquanto noutra parcela de doentes esta pode ter uma propagação rostro-caudal como demonstrado por Horsager e colaboradores em estudos de imagem (14).

Assumindo a hipótese da origem da DP no trato gastrointestinal, os estudos têm focado as atenções na microbiota intestinal, considerando a sua variabilidade inter-individual, a relação com o hospedeiro e o seu potencial de patogenicidade. Vários estudos têm reportado a existência de disbiose intestinal em doentes com Parkinson (15–31) pelo que se tem insistido na tentativa de descobrir o seu papel na etiologia e diagnóstico precoce da doença, assim como no desenvolvimento de terapias que melhorem a sintomatologia ou que atrasem a progressão dos processos neurodegenerativos. O interesse nesta área que tem adquirido um conhecimento crescente nos últimos anos, é o foco de análise desta monografia.

## **2. Objetivos**

Nos últimos anos, o desequilíbrio da microbiota intestinal tem sido associado ao desenvolvimento de determinadas doenças neurodegenerativas, como é o caso da doença de Parkinson. O estudo da influência da microbiota intestinal nos mecanismos patofisiológicos da doença pode permitir aumentar o seu conhecimento e desvendar novos caminhos na gestão terapêutica.

O objetivo principal desta monografia é realizar uma revisão da literatura científica, publicada nos últimos dez anos, sobre a possível relação entre a desregulação da microbiota intestinal e a patogénese da doença de Parkinson. Desta forma, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

- a) Descrever as alterações encontradas na composição da microbiota intestinal de doentes com Parkinson;
- b) Relacionar a disbiose intestinal de doentes com Parkinson com as manifestações motoras e não motoras da doença;
- c) Descrever os possíveis mecanismos pelos quais a microbiota intestinal pode contribuir para o desenvolvimento da doença de Parkinson;
- d) Identificar potenciais biomarcadores da doença de Parkinson;
- e) Identificar novas possibilidades de intervenção terapêutica.

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

### **3. Metodologia**

A pesquisa bibliográfica efetuada para a redação da presente monografia teve em conta a relação entre o intestino, a microbiota intestinal e a doença de Parkinson através da seleção de artigos escritos em inglês, de acordo com o resumo, recorrendo a bases de dados de literatura científica como a *Pubmed* e a *Web of Science*.

Para a pesquisa de informação sobre a microbiota intestinal normal foram utilizados os termos: ("normal" OR "baseline") AND ("human gut microbiota"); "(gut microbio\*)" AND ("healthy" OR "human"); e ("gut microbiome") AND ("healthy" OR "human") AND ("characteri\*").

As equações de pesquisa utilizadas para investigar a possível relação entre a microbiota intestinal e a doença de Parkinson consistiram na associação dos termos: "(microbiome OR microbes OR microbiota OR gut) AND (Parkinson OR Parkinson's) NOT (Review)"; "gut AND brain AND routes NOT (Review)" e "gut AND brain AND communication NOT (Review)". O intervalo de tempo considerado foi limitado aos últimos dez anos. Além da pesquisa efetuada, foram incluídos alguns artigos fora do intervalo de tempo considerado e com tipologia de revisão para uma melhor descrição da fisiopatologia da doença de Parkinson e explicação de alguns temas abordados.

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

#### 4. A microbiota intestinal em indivíduos saudáveis

O conceito de microbiota compreende o conjunto variado de espécies de microorganismos que habitam num determinado ambiente, seja ele um ecossistema, um *habitat* ou um hospedeiro (32). A microbiota inclui não só bactérias, como também fungos, protozoários e vírus (33). A sua composição varia ao longo do trato digestivo, destacando-se a abundância e diversidade existente no intestino grosso, que compreende cerca de 70% de toda a microbiota existente no corpo humano (33). O cólon alberga mais de  $10^{14}$  células microbianas, sendo que a sua maioria corresponde a bactérias (34).

A maior parte das espécies bacterianas que habita no intestino humano são comensais, que previnem a colonização por agentes patogénicos, mantêm a barreira intestinal e atuam no metabolismo de nutrientes e fármacos (33). Os microorganismos intestinais também desempenham um papel importante na maturação e desenvolvimento do sistema imunitário (34) e na produção de vitaminas, aminoácidos e biotransformação de ácidos biliares (35). A produção de neuromoduladores microbianos, como o ácido gama-aminobutírico (GABA, do inglês *Gamma-AminoButyric Acid*) e metabolitos do triptofano, e a produção de imunomoduladores como a histamina, também complementam a funcionalidade do hospedeiro humano na comunicação com o sistema nervoso e imunitário (36).

A maioria das bactérias presentes no cólon são anaeróbios estritos e têm como fonte de energia a fermentação de substratos não digeríveis como os hidratos de carbono complexos das plantas (fibra alimentar) (34). Os metabolitos resultantes da fermentação, como é o caso dos ácidos gordos de cadeia curta (AGCC) (acetato, butirato e propionato), têm importância não só na obtenção de energia como também apresentam efeitos anti-inflamatórios e anti-apoptóticos que podem proteger o hospedeiro de doenças, como o cancro colorretal e a colite (37).

Os agentes patogénicos primários para o Homem também são encontrados na microbiota entérica, como é o caso de *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica* e *Escherichia coli*; contudo a sua abundância não chega a 0,1% da microbiota entérica total (33).

A microbiota do intestino grosso dos indivíduos saudáveis é composta, maioritariamente, pelos filos bacterianos Firmicutes e Bacteroidetes (32,33). A abundância dos géneros e espécies é muito mais variável entre indivíduos do que o filo (35). Num estudo realizado com indivíduos saudáveis de quatro países diferentes (38),

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

foi feita uma caracterização dos filios e géneros mais frequentes (representado na Figura 3).

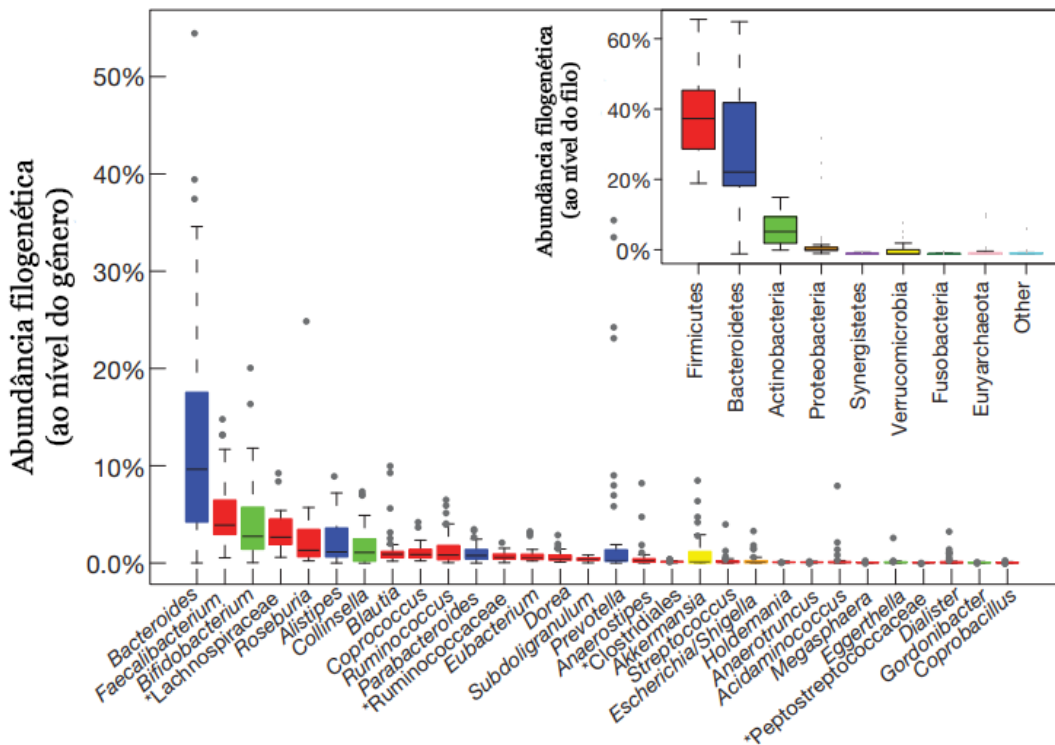


Figura 3– Representação gráfica da abundância filogenética ao nível do filo e género da microbiota intestinal de indivíduos saudáveis. As cores apresentadas pelos géneros representam a sua correspondência ao filo. (Adaptado de (38)).

Os fatores que contribuem para a variação inter-individual da microbiota intestinal saudável incluem a idade, a dieta e o uso de antibióticos (33). A primeira colonização do intestino humano parece ser adquirida pela mãe (e relacionada com o tipo de parto) e ser dependente da primeira alimentação (leite materno e/ou leite artificial) (33). Ao longo do tempo, a composição intestinal de uma criança torna-se cada vez mais semelhante à de um adulto, sendo até 60% similar por volta dos 3 anos; a maior estabilidade parece ser atingida entre a terceira e sétima década de vida, sendo que a sua diversidade tem tendência a aumentar com a idade (33,39). Na vida adulta, a dieta é o principal fator modificador da diversidade e abundância da microbiota intestinal, existindo uma correlação positiva com o maior consumo de vegetais, frutas e fibras e uma variação significativa entre diferentes áreas geográficas (33,39). O uso de antibióticos que ocorre em larga escala atualmente também parece ter um papel a curto e a longo prazo na homeostasia das comunidades que habitam no intestino humano, que pode permanecer durante alguns anos (33).

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

O entendimento da complexidade de interações entre as espécies bacterianas no intestino, assim como a sua função e composição, pode permitir a associação com estados saudáveis e patológicos; contudo, a variabilidade inter-individual dificulta a definição de um modelo-base que seja a referência universal de microbiota saudável (40).

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

## 5. Eixo intestino-cérebro

O eixo “intestino-cérebro” foi um termo criado nos últimos anos com base em estudos que demonstraram haver uma ligação especial entre estes dois órgãos (41). A evidência científica recente sugere que esta comunicação é bilateral (42,43) e tem potencial para ser a origem de determinadas patologias do foro neurológico, tendo em conta o possível impacto que tem sido descrito da microbiota intestinal no desempenho de funções cognitivas, por mediação da concentração de determinados metabolitos cerebrais, neurotransmissores e neurotrofinas importantes (44,45).

### 5.1. Vias de comunicação

O interesse que tem surgido no estudo do eixo intestino-cérebro deriva do possível impacto que pode ter nas doenças neurodegenerativas, como é o caso da DP, na qual o nervo vago tem sido considerado como a principal via de conexão destes dois órgãos. Um estudo observacional retrospectivo estabeleceu uma relação entre a cirurgia de remoção deste nervo e o risco de ter a DP (dentro de um espaço temporal de vinte anos), tendo sido demonstrada uma redução da probabilidade de desenvolver esta doença (46).

A maior evidência científica do papel do nervo vago tem surgido em estudos com modelos animais. Holmqvist e colaboradores (47) conseguiram demonstrar experimentalmente que a  $\alpha$ -sinucleína na parede intestinal de modelos de ratos progride ao longo do tempo até ao núcleo motor dorsal do nervo vago, atingindo posteriormente o bulbo raquidiano. Do mesmo modo, Garrido-Gil e colaboradores (42) através de uma abordagem diferente, demonstraram que se forem provocadas alterações na *substantia nigra* (uma injeção de 6-hidroxi-dopamina (6-OHDA) bilateral que leva à morte dos neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra* e conseqüente depleção de dopamina no estriado) e for induzido um estado inflamatório no intestino de modelos de ratos concomitantemente, verifica-se que existem alterações nas vias nigroestriatais que sugerem a perda de neurónios dopaminérgicos (diminuição dos níveis de dopamina, diminuição da expressão da enzima tirosina hidroxilase, e do rácio metabolitos:dopamina) se o nervo vago estiver presente, mas que tal não acontece com a mesma extensão na sua ausência, ou seja, em ratos sujeitos a vagotomia.

Apesar da hipótese do nervo vago como mediador da comunicação entre o intestino e o cérebro ser muito consensual, nem todos os estudos demonstram esta correlação, sugerindo a possibilidade de outras vias envolvidas. Arotcarena e

colaboradores (43) investigaram de que forma a propagação da  $\alpha$ -sinucleína ocorria entre o SNC e o sistema nervoso entérico (SNE) em babuínos, utilizando agregados desta proteína obtidos em autópsias de doentes humanos. As suas descobertas vêm apoiar a hipótese da possibilidade da progressão da  $\alpha$ -sinucleína em dois sentidos entre os plexos nervosos intestinais e as vias nigroestriatais no SNC. Contudo, de forma surpreendente, quando foram avaliadas as amostras do nervo vago, não foram encontradas alterações entre a quantidade de  $\alpha$ -sinucleína dos babuínos testados e os controlos. Sugere-se desta forma que possa haver outras vias alternativas sistémicas, que envolvam a corrente sanguínea, por onde pode circular a  $\alpha$ -sinucleína (43).

### 5.2. Hipótese de Braak

A consideração do nervo vago como via fundamental na progressão da DP surgiu de uma hipótese que tem sido mencionada por diversos autores e serve de base de pesquisa há alguns anos, sendo denominada por “hipótese de Braak”, por referência aos trabalhos apresentado por Heiko Braak e colaboradores (10,48). A hipótese de Braak sugere que o início da patologia pode ocorrer no trato gastrointestinal visto que, em autópsias de indivíduos com DP, os agregados de  $\alpha$ -sinucleína parecem ter uma propagação ascendente através do nervo vago, atingindo regiões vulneráveis no SNC de forma sequencial (10). Estas observações permitiram postular um estadiamento da doença em seis fases, que estão representadas na Figura 4.

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

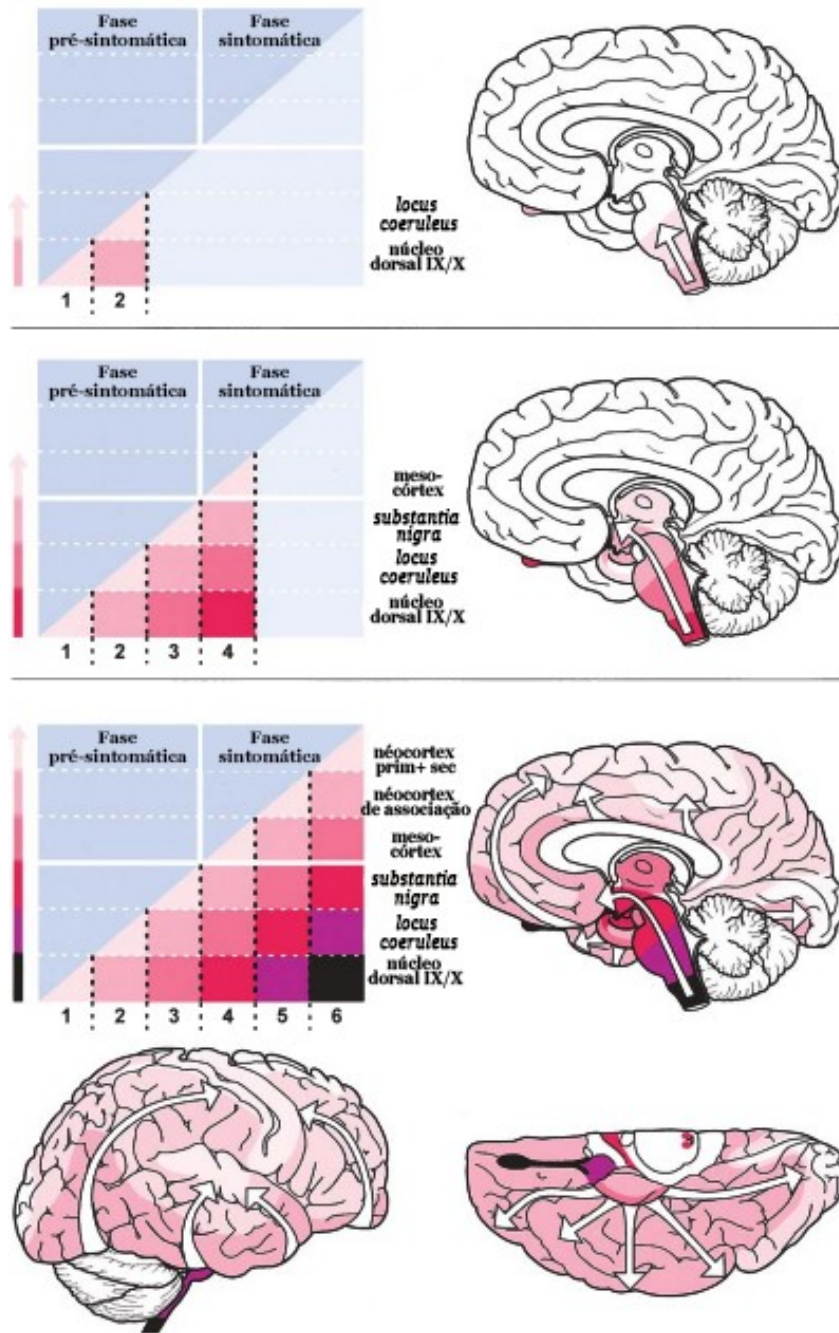


Figura 4 - Representação esquemática dos seis estádios da DP sugeridos por Braak e colaboradores. A propagação da doença parece ter um curso ascendente, desde o núcleo motor dorsal dos nervos IX/X, bulbo olfativo e núcleo olfativo anterior (estádio 1) até ao atingimento do neocórtex (estádios 5 e 6). A graduação de cor observada no esquema está relacionada com o grau de acumulação de  $\alpha$ -sinucleína na região representada, sendo maior quanto mais escura é a cor (Adaptado de (48)).

A hipótese de Braak, apresenta um modelo explicativo da DP baseando-se num conceito dedutivo pelas suas observações anteriores que, apesar de ter sido colocada há quase vinte anos, ainda continua presente como foco de estudo em modelos animais. Contudo, é possível identificar algumas limitações nas conclusões obtidas quanto ao estadiamento sugerido (49). Uma das limitações consistiu na seleção das amostras que

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

teve como critério de inclusão a presença de agregados no núcleo motor dorsal do nervo vago, descartando a possibilidade de a doença progredir a partir de outros locais no SNC. Além disso, a análise dos casos selecionados não relacionou os achados encontrados com a gravidade clínica da doença (49), da mesma forma que a progressão da doença é postulada apenas com base na dispersão de agregados de  $\alpha$ -sinucleína no SNC, sem considerar a perda de neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra* e as alterações nas células da glia, também típicas da DP.

## 6. Caracterização da microbiota em doentes com Parkinson

A caracterização da microbiota intestinal em doentes com Parkinson tem sido foco de vários estudos no sentido de encontrar padrões que permitam estabelecer uma relação com a origem da doença e a sua progressão clínica.

A microbiota intestinal tem sido estudada por análise de amostras fecais de doentes com Parkinson com o objetivo de identificar os *taxa* (unidades de classificação de seres vivos) presentes em maior abundância, através da sequenciação das diferentes populações bacterianas e identificação dos metabolitos presentes (esta última análise foi feita apenas em alguns estudos, por espectrometria de massa acoplada a cromatografia gasosa (16,18,19,23)). Para a comparação entre amostras de doentes com Parkinson e indivíduos saudáveis, também são utilizadas a diversidade  $\alpha$  e  $\beta$ . A diversidade  $\alpha$  corresponde à variedade de espécies bacterianas numa amostra, enquanto a diversidade  $\beta$  corresponde à diferença de composição entre amostras diferentes (50). Este método de análise de comunidades biológicas permite, portanto, estabelecer uma relação entre a composição microbiana e estados patológicos (50).

Os resultados obtidos referentes à diversidade  $\alpha$  não foram consensuais entre os vários estudos analisados, sendo que a maioria refere não haver diferenças significativas entre as amostras de doentes e controlos saudáveis (15,18,20–24). Alguns estudos demonstraram haver uma diversidade  $\alpha$  superior em doentes (17,19,25–27), enquanto outros reportaram uma diminuição da diversidade (21,28). Jin e colaboradores (29) reportaram uma maior riqueza de comunidades bacterianas em doentes recém-diagnosticados, em comparação com doentes com diagnóstico há mais de um ano e controlos saudáveis. Estes resultados podem sugerir que uma maior abundância de bactérias no início da doença pode ter um papel relevante na sua patofisiologia.

Relativamente à diversidade  $\beta$ , os estudos têm demonstrado que há diferenças significativas entre as amostras de doentes e controlos saudáveis (15,18,19,21–23,25–29), o que reforça a necessidade de estudar de forma mais aprofundada a composição microbiana em doentes com Parkinson, com o intuito de identificar os agentes bacterianos possivelmente implicados na disbiose intestinal e a sua relevância no desenvolvimento da patologia.

Na Tabela 1 (ver Apêndice I) é possível denotar algumas semelhanças entre estudos realizados por diferentes autores em diferentes países e áreas geográficas. Contudo, alguns estudos apontam resultados contraditórios relativamente à maior ou menor abundância de determinados níveis taxonómicos, e podem ser feitas algumas

considerações a esse respeito. A variação nas dietas das diferentes áreas geográficas pode explicar os resultados incoerentes relativos a determinados *taxa* como é o caso da família Lactobacillaceae, cuja abundância pode estar aumentada em controlos saudáveis oriundos do Nordeste da China, onde é consumida uma couve fermentada (“Suan Cai”) que é enriquecida neste género bacteriano (20).

A relação entre diferentes géneros bacterianos pode estar implicada nas variações de abundância encontradas. Scheperjans e colaboradores (22) reportaram que a abundância da família Ruminococcaceae parece ter uma relação inversa com a abundância de Prevotellaceae, podendo estar implicado um mecanismo compensatório, independente da presença de DP.

A comparação entre doentes com um *timing* de diagnóstico diferente também pode ser relevante para os resultados, como foi reportado por Jin e colaboradores (29), que salientaram as diferenças entre doentes recém-diagnosticados e doentes diagnosticados há mais de um ano, podendo ser justificadas como derivadas de alterações no estilo de vida ou o impacto da medicação.

Os estudos da microbiota intestinal normalmente focam-se na composição do conteúdo fecal, sem considerar a possibilidade de se verificarem associações entre a microbiota e a mucosa. Keshavarzian e colaboradores (17) demonstraram que existem diferenças significativas entre as comunidades bacterianas associadas à mucosa e as comunidades analisadas nas fezes, sendo que estas últimas podem não ter tanto impacto na saúde do hospedeiro.

### 6.1. Composição bacteriana: função e relação com a severidade clínica

Alguns autores relacionam a composição bacteriana intestinal de doentes com Parkinson com as possíveis funções biológicas e a severidade clínica.

Os géneros *Akkermansia*, *Oscillospira*, *Bacteroides*, *Ralstonia*, que estão descritos como aumentados em doentes com Parkinson (ver Apêndice I) são apontados como tendo possível atividade pró-inflamatória (17). Em contraste, os géneros bacterianos produtores de AGCC, que têm sido descritos na literatura científica como tendo atividade anti-inflamatória, têm sido reportados como diminuídos, como é o caso de *Blautia*, *Coprococcus*, *Roseburia*, *Faecalibacterium* (17). A redução da família Prevotellaceae pode também ter impacto na permeabilidade da barreira intestinal, tendo em conta que compõem um grupo de bactérias produtoras de mucina, que protege os enterócitos (22,30).

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

A abundância de determinados aminoácidos aromáticos e ramificados (isoleucina, valina, fenilalanina, tirosina, triptofano), precursores de neurotransmissores, também parece estar diminuída em doentes com Parkinson, e está relacionada com o aumento dos géneros *Rikenellaceae\_RC9\_gut\_group*, *Parabacteroides*, *Bifidobacterium*, *Alistipes* e com a diminuição de *Faecalibacterium* (18).

A duração da doença e a severidade da DP medida segundo as escalas UPDRS e Hoehn & Yahr parece ter alguma relação com a abundância relativa de alguns géneros bacterianos. Keshavarzian e colaboradores reportaram que a diminuição da abundância da família Lachnospiraceae (constituída por vários géneros anti-inflamatórios produtores de butirato, um AGCC) em particular do género *Blautia*, parece ocorrer com o aumento da duração da doença (17). O aumento dos géneros *Parabacteroides*, *Akkermansia*, *Coprococcus*, *Bilophila*, *Collinsella*, *Methanobrevibacter*, *Eggerthella* e *Adlercreutzia* (25) e a diminuição do género *Faecalibacterium* (21) parece também estar relacionado com o aumento da duração da doença e com uma maior pontuação no *score* de severidade Hoehn & Yahr. O aumento de bactérias com atividade patogénica pertencentes à família Enterobacteriaceae (*Escherichia*, *Shigella*, *Proteus*, *Enterococcus*) foi relatado por Li e colaboradores (24) como estando associado à duração da doença, assim como a maiores pontuações na secção III (função motora) do *score* UPDRS. Scheperjans e colaboradores (22) também demonstraram que a maior abundância desta família está relacionada com uma maior instabilidade postural e da marcha.

A comparação entre diferentes subtipos da DP também parece ter alguma relação com a microbiota intestinal, segundo evidência de Lin e colaboradores (27). Foi demonstrada que a abundância dos géneros *Akkermansia* e *Clostridium* era superior em doentes com tremor, enquanto em doentes sem tremor, os géneros mais abundantes encontrados consistiam em *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Flavobacterium*, *Mogibacterium*, *Sutterella*, *Alcaligenaceae*, *Cupriavidus* e *Desulfovibrio* (27).

Relativamente à disfunção cognitiva parece existir uma relação inversa entre a abundância relativa dos géneros *Butyricimonas*, *Alistipes* e *Odoribacter* e a pontuação no *score* MoCA (do inglês, *Montreal Cognitive Assessment*) e a mesma relação inversa entre os géneros *Butyricimonas* e *Barnesiella* e o *score* MMSE (do inglês, *Mini Mental State Examination*) (19).

A análise das funções biológicas hipotéticas das comunidades bacterianas encontradas em maior abundância relativa e a sua relação com a severidade clínica, pode permitir deduzir de que modo o desequilíbrio do ecossistema intestinal pode ter relevância na DP. Contudo, existem vários desafios à uniformização dos dados obtidos e

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

às ilações que podem ser retiradas destes, tendo em conta que os resultados dos estudos analisados não permitem estabelecer uma relação causa-efeito, as amostras da maioria dos estudos ser reduzida (a maior parte dos estudos analisados tem menos de sessenta doentes), as diferentes dietas das populações de diversas áreas geográficas estudadas (contornadas em alguns estudos através da inclusão dos cônjuges como controlos (19,25,26,29)), as diferenças da medicação prescrita (há alguma relação entre o metabolismo dos fármacos e a microbiota intestinal (16,21,29)), a idade, presença de comorbilidades, o estadio da doença e manifestações clínicas (por exemplo, presença de sintomas gastrointestinais). Além disso, os estudos encontrados fazem comparações segundo diferentes níveis taxonómicos, o que complica a generalização dos dados.

## 7. **Relação entre a microbiota e a etiologia da doença de Parkinson**

A etiologia da DP tem sido uma incógnita desde a sua descoberta, apesar de ter sido descrita pela primeira vez há mais de 200 anos. A identificação dos genes associados à DP familiar, para além de permitir um diagnóstico precoce e aconselhamento familiar, tem permitido focalizar o estudo nas alterações genéticas e a sua relação com uma maior predisposição para o desenvolvimento da doença (3). Apoiando a possibilidade da origem da doença na microbiota intestinal, foi demonstrado em murganhos que uma mutação da chaperona DJ-1 (gene Park7) tem impacto significativo na composição da microbiota intestinal e providencia um perfil inflamatório, envolvendo as células da glia, o que aumenta a suscetibilidade dos neurónios dopaminérgicos ao efeito nocivo da exposição ao LPS (lipopolissacarídeo), uma endotoxina bacteriana (51,52). Noutro estudo em murganhos com ausência do gene PINK1, a infeção intestinal por bactérias gram-negativas (que são portadoras de LPS na sua parede celular) provocou uma reação autoimune (células T CD8<sup>+</sup> anti-mitochondriais) que desencadeou sintomas característicos da DP, por lesão de neurónios dopaminérgicos (53).

A dependência da microbiota intestinal para as manifestações motoras da doença tem sido testada em murganhos. A administração oral de rotenona (pesticida conhecido por induzir manifestações motoras semelhantes à DP) durante seis semanas, provocou uma diminuição da força e coordenação motora em murganhos saudáveis; contudo, o mesmo não foi observado em murganhos “*germ-free*” (expressão que indica a depleção total de bactérias no seu intestino) (54). Sampson e colaboradores (55) também demonstraram que a microbiota intestinal é importante para o desenvolvimento de défices motores característicos da doença, através da mediação de processos inflamatórios que promovem a ativação da microglia e a agregação de  $\alpha$ -sinucleína, em modelos animais. A transferência de amostras fecais de doentes com Parkinson para murganhos, também teve um impacto significativo no agravamento da sintomatologia.

O impacto do desequilíbrio do microbioma intestinal a nível sistémico e no SNC pode ser dependente do eixo intestino-cérebro, e como tal, um ambiente vulnerável pode potenciar esta comunicação, pelo que a barreira intestinal assume um papel de contenção à ação de agentes patogénicos que apresentem atividade altamente inflamatória. Os estudos em doentes com Parkinson têm demonstrado que há uma elevação de calprotectina (56,57) (marcador inflamatório intestinal) e de zonulina (56,57) e alfa-1-anti-tripsina (56) (marcadores de permeabilidade intestinal) em amostras séricas e fecais, o que suporta a possibilidade do envolvimento destes fatores

na etiologia da DP. Forsyth e colaboradores (58) também demonstraram a existência de uma maior permeabilidade da mucosa do cólon sigmóide (através do teste da secreção urinária de sucralose) em doentes com Parkinson associada a uma maior exposição da mucosa a endotoxinas bacterianas (coloração intensificada de *E. coli* na mucosa do cólon sigmóide e níveis plasmáticos reduzidos de proteínas ligantes a LPS) e a um aumento da acumulação de  $\alpha$ -sinucleína e do stress oxidativo local (intensificação da coloração de  $\alpha$ -sinucleína e de nitrotirosina).

### 7.1 Permeabilidade intestinal

A mucosa intestinal é coberta por uma camada de muco, produzida por células caliciformes, que protege o epitélio e serve de substrato à microbiota, sendo uma fonte de carbono e energia (59). A espessura desta camada é dependente do consumo de fibra alimentar e da composição bacteriana no intestino, pelo que a sua redução aumenta a interação entre agentes patogénicos e a mucosa, o que pode ter efeitos nocivos para o hospedeiro (representação ilustrativa desta hipótese na Figura 5) (60).

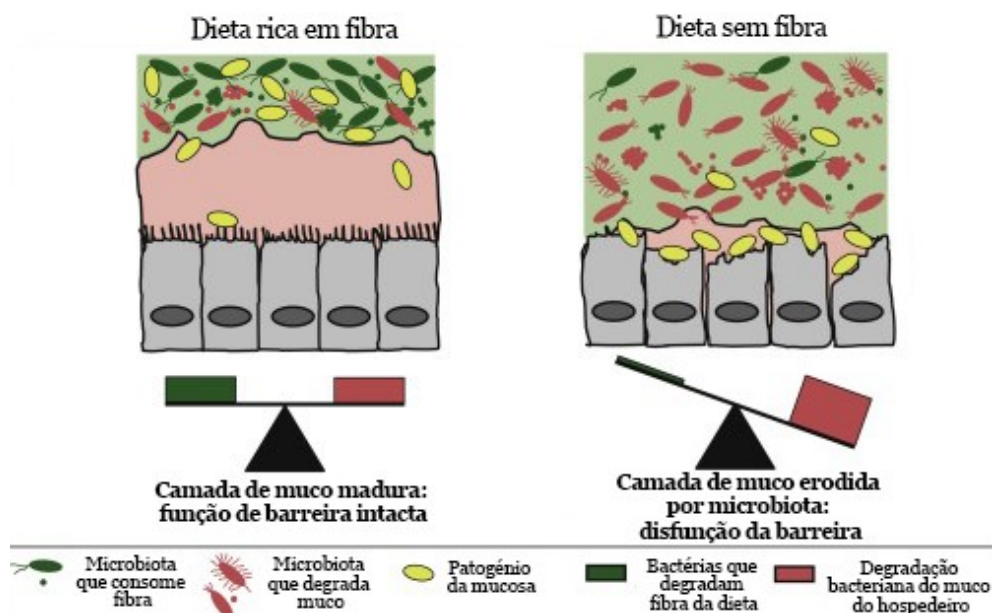


Figura 5 – Representação ilustrativa da importância da fibra alimentar na preservação da integridade da mucosa intestinal. Uma dieta rica em fibra favorece a proliferação de bactérias produtoras de muco, inibindo o crescimento de bactérias patogénicas e degradantes de muco. Pelo contrário, uma dieta sem fibra aumenta a abundância de bactérias degradantes de muco e aumenta a suscetibilidade da mucosa à ação de agentes patogénicos (Adaptado de (60)).

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

As espécies que normalmente degradam mucina constituem uma pequena percentagem da microbiota, estando incluídas neste grupo os géneros *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* e *Akkermansia* (59); contudo a sua abundância parece estar aumentada na DP, o que pode contribuir para uma maior permeabilidade da barreira intestinal nestes doentes.

Um dos fatores que pode ser responsável pela maior permeabilidade intestinal consiste na redução de espécies bacterianas que se acredita serem responsáveis pela produção de AGCC. Feng e colaboradores demonstraram, em murganhos, que a disbiose intestinal provocada por antibióticos de largo espectro leva a uma redução de AGCC, diminuição da expressão de proteínas das junções de oclusão nomeadamente, ZO-1, ocludina e claudina-1 (responsáveis pela permeabilidade seletiva da mucosa intestinal) e a uma ativação do inflamassoma por NLRP3 (do inglês, “*Nod-Like Receptor 3*”) (61). A ativação do inflamassoma é um meio pelo qual se desenvolvem cascatas inflamatórias no sistema imune inato, pelo que um defeito nos seus elementos reguladores pode dar origem a uma maior suscetibilidade à lesão epitelial (62).

A nível central parece também poder haver um comprometimento da barreira hematoencefálica com a redução de AGCC, por diminuição das espécies produtoras de propionato e acetato (dois AGCC), segundo um estudo em macacos *rhesus* (63). As concentrações absolutas de AGCC, nomeadamente, acetato, propionato e butirato, encontram-se também diminuídas em doentes com Parkinson (16), assim como as populações bacterianas responsáveis pela sua produção, como foi descrito previamente. Os AGCC podem proteger as células da mucosa intestinal pela diminuição da ativação inflamatória provocada pelas endotoxinas bacterianas, preservando a permeabilidade intestinal normal (64). O butirato, para além de ser uma fonte de energia, é um inibidor das desacetilases de histona (podendo regular a expressão génica), e assume um papel protetor dos enterócitos, participando em funções como a mediação da produção de mucina, expressão de proteínas das junções de oclusão e de processos anti-inflamatórios como a regulação da quimiotaxia de citocinas inflamatórias (65).

No entanto, os resultados dos estudos entre doentes e modelos animais da DP têm sido contraditórios, tendo sido demonstrado em murganhos que os AGCC podem ser potenciadores do desenvolvimento de sintomas característicos da DP (55). Apesar dos efeitos benéficos que têm sido atribuídos aos AGCC, o facto de não serem completamente reproduzidos em modelos animais da DP pode apontar para as limitações destes ou para funções paradoxais ainda não identificadas. Além disso, é sugerido que podem interferir no desenvolvimento da patologia numa fase inicial e os resultados que têm sido reportados em humanos podem dever-se a uma fase posterior da doença (66).

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

O modo como os agentes patogênicos se aproveitam da maior permeabilidade da mucosa intestinal ainda não foi esclarecido, mas existem algumas propostas que assentam nos fatores de virulência. As toxinas microbianas podem desempenhar um papel importante na integridade da barreira intestinal e na neuroinflamação como é demonstrado por Esteves e colaboradores (67), que apresentam um modelo pelo qual uma toxina microbiana, que pode estar presente nas cadeias alimentares e é proveniente de ecossistemas marinhos, pode induzir processos patológicos que culminam na disfunção mitocondrial no mesencéfalo (Figura 6).

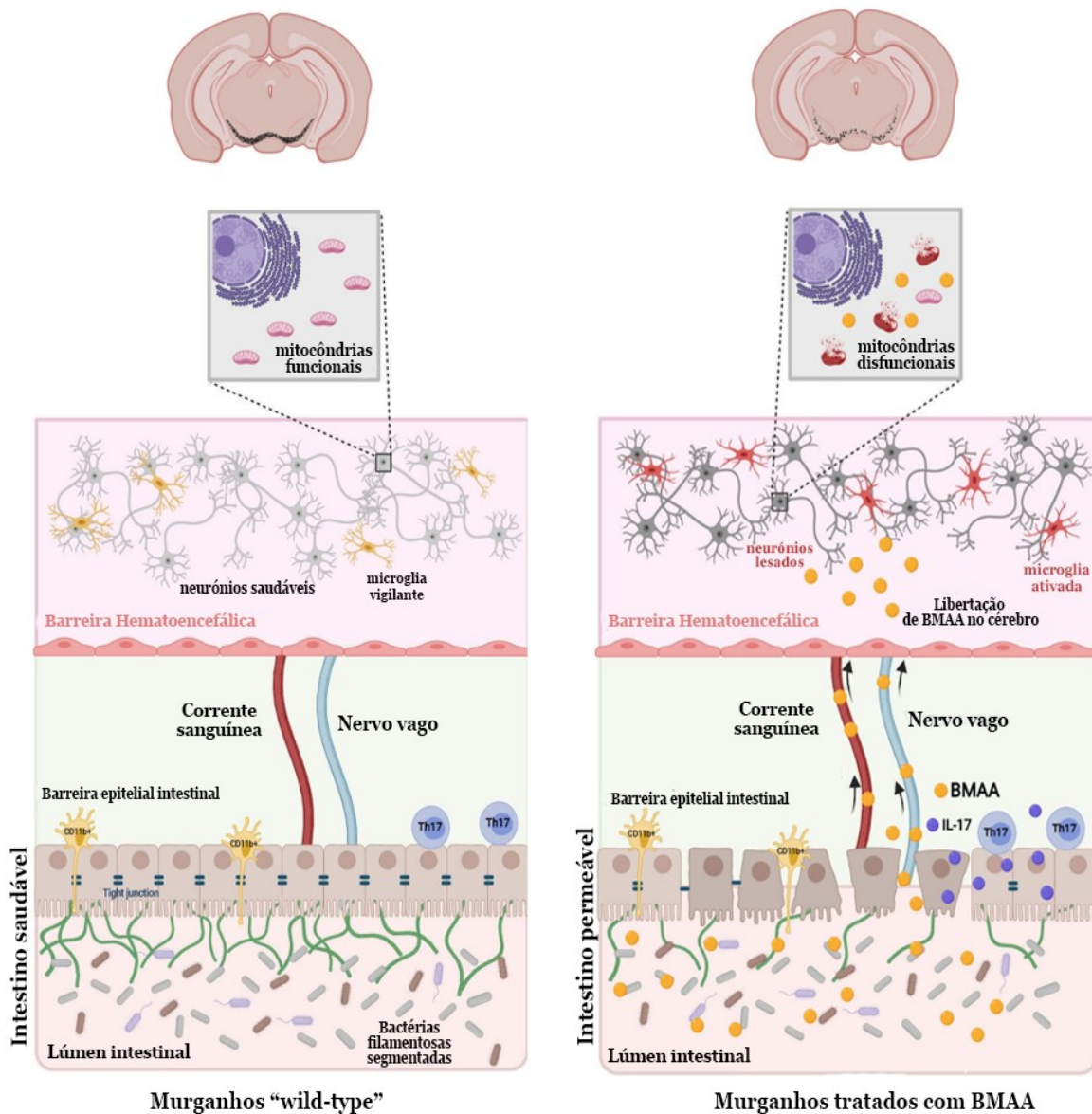


Figura 6 - A BMAA (beta-N-metilamino-L-alanina) é uma toxina microbiana que pode provocar a redução das bactérias filamentosas segmentadas, levando à diminuição da integridade da barreira intestinal e indução de um estado inflamatório com um aumento da agregação da  $\alpha$ -sinucleína, que pode progredir até ao SNC. Esta toxina pode atingir o SNC pela corrente sanguínea e pelo nervo vago, onde é capaz de induzir uma disfunção mitocondrial, ativação da microglia e dano nos neurónios dopaminérgicos (Adaptado de (67)).

## 7.2. Papel da inflamação

A germinação de um estado inflamatório no intestino pode ser um mecanismo implicado na etiopatogenia da DP, como foi sugerido anteriormente. Devos e colaboradores (68) demonstraram que existe um aumento significativo na expressão de citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$  (Fator de necrose tumoral, do inglês *Tumor Necrosis Factor*); interferão- $\gamma$ ; interleucina (IL)-6 correlacionado com um aumento da expressão de marcadores entéricos gliais (GFAP; SOX-10), em biópsias do cólon ascendente de doentes com Parkinson. Também foi verificado por Perez-Pardo e colaboradores (69) a existência de um aumento da expressão de TLR4 (um ligando específico de endotoxinas bacterianas), células T CD3+ e de citocinas em doentes com Parkinson e que, em modelos de murganhos, a ausência de TLR4 diminuía a inflamação intestinal, a disfunção intestinal e motora e a perda de neurónios dopaminérgicos provocada pela rotenona (substância utilizada para induzir características patológicas da DP em modelos animais).

A disbiose intestinal pode ser um fator importante na origem da inflamação intestinal, tendo em conta o potencial patogénico de algumas espécies bacterianas residentes. Lin e colaboradores (27) demonstraram que o aumento da abundância do género *Bacteroides* e do filo Verrucomicrobia está associado ao aumento dos níveis das citocinas pró-inflamatórias TNF- $\alpha$  e interferão- $\gamma$ , respetivamente. A exposição do hospedeiro a endotoxinas bacterianas, como o LPS (presente na parede celular de bactérias gram-negativas) podem estar implicadas no aumento da inflamação a nível intestinal e na neuroinflamação que culmina na DP. Gorecki e colaboradores (70) demonstraram que o LPS provoca uma alteração da disposição das proteínas das junções de oclusão (ZO-1 e e-caderina) das células epiteliais do intestino, *in vitro*. Choi e colaboradores (71) sugerem um mecanismo pelo qual o LPS pode assumir uma especial importância. A administração de uma espécie bacteriana patogénica gram-negativa, *Proteus mirabilis*, em murganhos, aumentou a permeabilidade intestinal e induziu uma resposta inflamatória que aumentou a morte celular dos neurónios dopaminérgicos na *substantia nigra pars compacta* (e a degeneração concomitante dos terminais destes no estriado) e aumentou a ativação da microglia e a agregação de  $\alpha$ -sinucleína, com a consequente manifestação de sintomas motores precocemente (Figura 7).

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

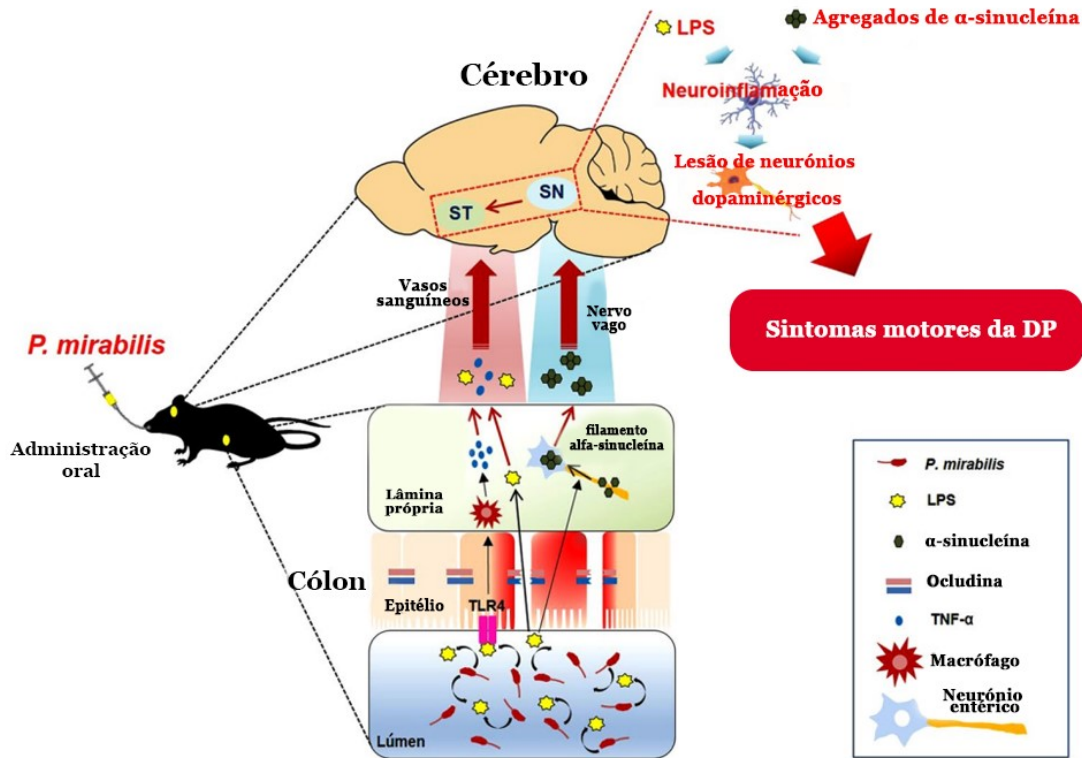


Figura 7 - Representação esquemática do efeito que a espécie *Proteus mirabilis* pode ter na indução de características patológicas da DP em murros, desde a indução de inflamação intestinal, através de um fator de virulência (LPS), até aos possíveis efeitos a nível cerebral que despoletam disfunção motora. A administração oral de *P. mirabilis* leva a um aumento desta espécie na microbiota do lúmen intestinal. O lipopolissacarídeo (LPS) presente na membrana de *P. mirabilis* é reconhecido por receptores membranares TLR4 (provocando um aumento mediado por macrófagos das citocinas inflamatórias como o TNF-α) e induz um aumento da permeabilidade intestinal (por diminuição da expressão de ocludinas), o que leva ao aumento da resposta inflamatória e de proteínas ligantes a esta endotoxina na corrente sanguínea. Adicionalmente, o LPS pode ser responsável por aumentar a agregação da α-sinucleína na lâmina própria, que progride posteriormente para o SNC através do nervo vago. O LPS e a α-sinucleína podem atingir seletivamente os neurónios dopaminérgicos da *substantia nigra* (SN) e suas projeções no estriado (ST) e provocar uma inflamação neuronal (ativação da microglia) que resulta na lesão destas células, culminando no desenvolvimento de sintomas motores típicos (Adaptado de (71)).

A perturbação na ativação de um inflamassoma pode permitir uma maior suscetibilidade à lesão epitelial, pela predisposição à ação deletéria de determinados agentes bacterianos, como demonstrado, por Seregin e colaboradores (62), em murros com deficiência de NLRP6 (do inglês, “*Nod-Like Receptor 6*”) (Figura 8). Noutro estudo, foi demonstrado que a formação de um inflamassoma por NLRP3 (do inglês, “*Nod-Like Receptor 3*”) pode estar implicada na diminuição da barreira intestinal, por redução da expressão de proteínas de membrana (61).

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

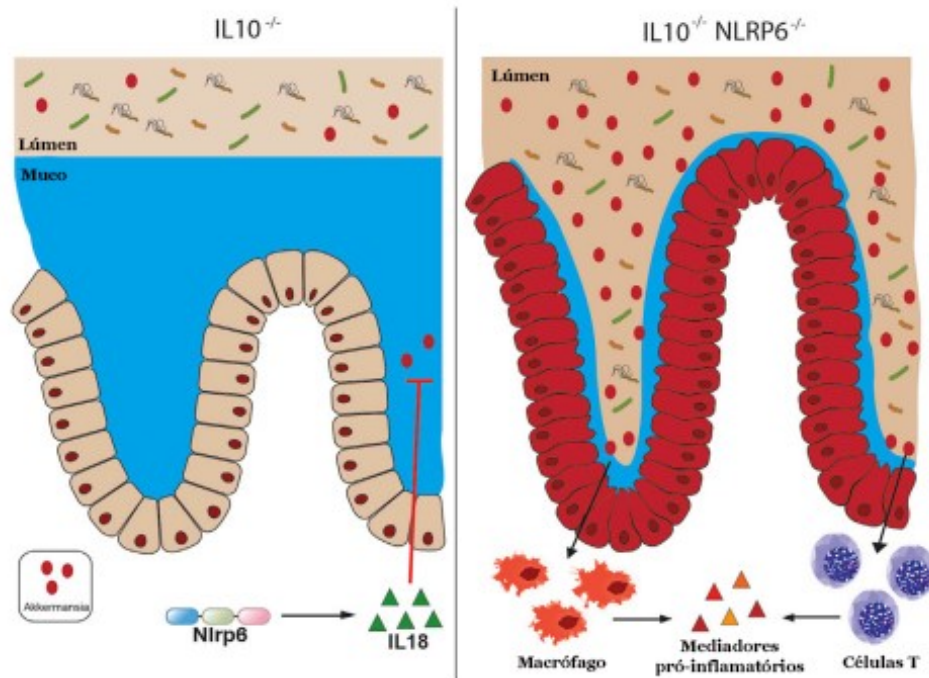


Figura 8 – O reconhecimento por NLRP6 pode ser importante na limitação da colonização intestinal pela espécie *Akkermansia muciniphila*, inibindo os seus efeitos no muco e mediação de processos inflamatórios. Em murganhos com depleção de interleucina-10 (IL-10), a formação de um inflamassoma NLRP6 induz a expressão de interleucina-18 (IL-18), o que inibe a proliferação de *A. muciniphila* e, conseqüentemente, preserva a camada de muco que protege o epitélio intestinal. A ausência de NLRP6 em murganhos com depleção de IL-10 permite uma proliferação bacteriana acentuada levando a um aumento do consumo de muco existente na superfície dos enterócitos, aumento da produção de mediadores pró-inflamatórios (pela maior ativação de macrófagos e células T) e o desenvolvimento subsequente de colite (Adaptado de (62)).

### 7.3. Sistema Nervoso Central: o destino final?

A microbiota intestinal pode ser responsável pela agregação anormal da  $\alpha$ -sinucleína que posteriormente se desloca até ao SNC de forma progressiva e é responsável pela DP. Contudo, ainda não está claro se o ponto de partida da doença é o intestino, e se os agregados de  $\alpha$ -sinucleína que têm sido encontrados no SNE não resultam antes de uma propagação desta proteína de forma rostro-caudal. Um estudo em indivíduos *post mortem* sugere que as bactérias e fungos podem alojar-se no tecido nervoso em doentes com Parkinson. Pisa e colaboradores (72) demonstraram, através de anticorpos fúngicos e bacterianos, a presença de entidades microbianas diversas em diferentes regiões do SNC (principalmente no córtex motor, mesencéfalo e bulbo raquidiano), em amostras de doentes com Parkinson. Desta forma, reforça-se a hipótese do envolvimento de microorganismos na patogénese da DP, que podem atingir as regiões do SNC implicadas na doença, em ambientes suscetíveis.

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

## 8. Microbiota intestinal como marcador de diagnóstico

Até ao momento não existem biomarcadores específicos da doença, pelo que as alterações observadas na microbiota intestinal em doentes com Parkinson poderão abrir portas para o diagnóstico precoce da doença, através do estudo do genoma e metaboloma fecal e da abundância das comunidades bacterianas fecais que têm sido identificadas nos estudos.

A comparação entre os diferentes estudos em doentes com Parkinson revelou vários dados díspares pelo que não é possível definir de forma consistente quais os grupos taxonómicos diretamente associados com a DP. Contudo, alguns autores sugerem algumas espécies como potencialmente relevantes para o diagnóstico. Segundo Scheperjans e colaboradores (22), a família Prevotellaceae tem potencial para ser usada como fator de exclusão da DP. Apesar de isoladamente não ser suficientemente específica, a sua abundância é habitualmente muito reduzida em doentes com Parkinson. É, desta forma, sugerido pelos autores que sejam usados outros *taxa* para aumentar a sensibilidade e especificidade desta discriminação.

Hopfner e colaboradores (15) determinaram o valor preditivo dos achados encontrados através de uma análise de curva ROC (do inglês, “*Receiver Operating Characteristic*”) relativamente à abundância das famílias Lactobacillaceae, Barnesiellaceae e Enterococcaceae para a DP tendo obtido um valor AUC (do inglês, “*Area Under the Curve*”) de 0.83 (95% de intervalo de confiança: 0.73-0.94); ou seja, estes achados permitem discriminar doentes com Parkinson de controlos saudáveis com cerca de 83% de precisão. Yan e colaboradores (18) identificaram o género *Rikenellaceae\_RC9\_gut\_group* como preditor de doença, com um valor de AUC de 0.899 (95% de intervalo de confiança: 0.798–0.999).

A caracterização genómica de amostras fecais também pode permitir identificar biomarcadores da DP. Qian e colaboradores (73) identificaram vinte e cinco marcadores genéticos da microbiota intestinal que podem permitir o diagnóstico da doença e a diferenciação com outras patologias, como a doença de Alzheimer (DA) e a Atrofia Multissistémica (AMS). Os autores fizeram uma validação dos resultados usando um grupo independente composto por setenta e oito doentes com Parkinson, setenta e cinco controlos saudáveis, quarenta doentes com AMS e vinte e cinco doentes com Alzheimer e demonstraram que o uso dos marcadores identificados permite discriminar a DP (AUC de 0.905; 95% intervalo de confiança: 0.860–0.951), e diferenciar de AMS (AUC de 0.831; 95% intervalo de confiança: 0.74 –0.922) e de DA (AUC de 0.901; 95% intervalo de confiança: 0.827–0.976).

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

O estudo do metaboloma fecal de doentes com Parkinson em comparação com controlos saudáveis, tem evidenciado uma reduzida concentração de AGCC e alterações significativas no metabolismo de aminoácidos (por exemplo, isoleucina, leucina e fenilalanina – apesar de apresentarem relações de abundância contraditórias entre estudos (18,23)), lípidos (redução dos ácidos oleico e linoleico) e vitaminas (redução de ácido pantoténico (vitamina B5) e ácido nicotínico (vitamina B3)) (16,23). Assim, os metabolitos bacterianos e as vias metabólicas comprometidas podem ser potenciais biomarcadores da DP. Contudo, até à data e na sequência da pesquisa realizada, não foram encontrados estudos que tenham avaliado o uso do metaboloma fecal como biomarcador de diagnóstico da DP.

Os possíveis biomarcadores apresentados têm resultados de AUC que os configura como excelentes preditores da DP (74). Os resultados obtidos, apesar de promissores, devem ser replicados em mais estudos com amostras populacionais mais alargadas para uma melhor aferição da sua replicabilidade. Além disso, reforça-se a necessidade de existência de mais estudos que incidam na caracterização da microbiota intestinal, não só por sequenciação génica como também ao nível do metaboloma fecal, para descobrir novas possibilidades de biomarcadores da doença.

## 9. Possibilidades terapêuticas: foco na microbiota intestinal

A melhoria da qualidade de vida dos doentes com Parkinson e a possibilidade de atrasar a progressão dos processos neurodegenerativos seria um avanço científico com um real impacto na morbimortalidade desta população, principalmente se fosse possível atuar na história natural da doença através da modificação da microbiota intestinal. O uso de probióticos, prebióticos e o transplante de microbiota fecal são possibilidades que têm sido testadas em modelos animais e em doentes com Parkinson.

### 9.1. Probióticos e Prebióticos

Os probióticos são suplementos alimentares que contêm microorganismos vivos e que são usados com o objetivo de equilibrar a composição da microbiota intestinal (75). Um estudo *in vitro* (76) demonstrou que um probiótico composto por *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* tem a capacidade de inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-17A), aumentar a produção de citocinas anti-inflamatórias (IL-4 e IL-10) e diminuir a produção de espécies reativas de oxigênio pelas células monoclonais obtidas de doentes com Parkinson e de controlos saudáveis, com destaque para as espécies *Lactobacillus salivarius* LSO1 e *Lactobacillus acidophilus* LAO2. Castelli e colaboradores (77) também demonstraram *in vitro* (linhagem de células humanas SH-SY5Y) que a formulação SLAB51 pode aumentar os níveis de proteínas com efeito neuroprotetor e diminuir as proteínas associadas a morte celular, por modulação de BDNF (fator neurotrófico derivado do cérebro, do inglês *Brain-Derived Neurotrophic Factor*), uma neurotrofina que tem o papel de manutenção da sobrevivência e diferenciação de células dopaminérgicas.

O papel dos probióticos também tem sido estudado em modelos animais da DP. Srivastav e colaboradores (78) demonstraram que uma mistura de probióticos, nomeadamente *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium animalis lactis* e *Lactobacillus acidophilus*, permite proteger os neurónios dopaminérgicos (na *substantia nigra*) da neurotoxicidade das substâncias 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) e rotenona. Em murganhos expostos a MPTP, o probiótico *Clostridium butyricum* (79) diminuiu a disbiose intestinal, reduziu a perda de neurónios dopaminérgicos e melhorou os défices motores. A suplementação com o probiótico *L. salivarius* AP-32 em ratos expostos a 6-OHDA aumentou as concentrações fecais de AGCC, aumentou a atividade de enzimas anti-oxidativas e melhorou a função

mitocondrial, mecanismos que podem ser responsáveis pela preservação dos neurónios dopaminérgicos e melhoria da motricidade observadas (80,81).

O probiótico *Lactobacillus plantarum* PS128 já foi demonstrado em murganhos que poderia reduzir a progressão das alterações neurodegenerativas que ocorrem na DP, aumentando os níveis das neurotrofinas BDNF e NGF no estriado, dos neurotransmissores dopamina e norepinefrina e reduzindo a ativação das células da glia, preservando os neurónios dopaminérgicos (82). Os seus benefícios foram testados por Lu e colaboradores (83) em doentes com Parkinson que notaram que o tratamento diário de vinte e cinco doentes durante doze semanas melhorou a pontuação no *score* UPDRS total e na secção III (função motora), com destaque para uma relação ON/OFF superior (maior sensibilidade ao efeito da levodopa), diminuição do *subscore* de acinesia no período OFF e uma melhoria na qualidade de vida (quantificada pelo *score* PDQ-39). Contudo, não foram observadas reduções significativas no tremor, rigidez, postura e marcha.

Os prebióticos são compostos alimentares não digeríveis que promovem o crescimento e/ou a atividade de determinadas espécies bacterianas do hospedeiro (75). Chen e colaboradores (84) demonstraram que a administração oral de fisetina (um bioflavonoide encontrado em frutas e vegetais) em murganhos protege dos efeitos provocados pela injeção intraperitoneal de MPTP, diminuindo as debilidades motoras induzidas por esta substância (na locomoção, coordenação e bradicinesia). Adicionalmente foi demonstrada uma maior abundância da família Lachnospiraceae e uma abundância significativamente reduzida dos géneros *Escherichia-Shigella* e *Bacillus* no grupo intervencionado com fisetina, em comparação com o grupo de murganhos injetados com MPTP.

Becker e colaboradores (85) testaram o uso de amido resistente como prebiótico em doentes com Parkinson, durante oito semanas. Uma melhoria nos sintomas não motores, entre os quais, os sintomas depressivos, foi reportada; contudo não se observaram alterações nos hábitos intestinais. Em termos de marcadores fecais, foi também observada a redução dos níveis de calprotectina, sugerindo uma diminuição da inflamação intestinal. Não foram observadas alterações na diversidade da microbiota intestinal entre os vários grupos testados, incluindo a abundância de bactérias produtoras de AGCC.

## 9.2. Transplante de microbiota fecal

O uso de transplante de microbiota fecal (TMF) de pessoas saudáveis não é uma iniciativa nova, sendo que já é usada atualmente no tratamento de infecções gastrointestinais. A seleção da microbiota para transferir é proveniente de indivíduos saudáveis e, após purificação, pode ser colocada no intestino de doentes através de sonda nasoduodenal, colonoscopia ou cápsula oral (86).

Em murganhos expostos a MPTP, foi demonstrado que o TMF pode ter efeitos neuroprotetores ao melhorar a disbiose intestinal (87). A melhoria no desempenho motor foi demonstrada concomitantemente com a diminuição da expressão de marcadores inflamatórios (TLR4, TBK1, NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$ ) no estriado e no cólon, diminuição da ativação da microglia e dos astrócitos que circundam os neurónios dopaminérgicos, aumento dos níveis de dopamina e serotonina no estriado e diminuição da perda de neurónios dopaminérgicos. Adicionalmente aos resultados apresentados neste estudo, Zhong e colaboradores (88) demonstraram que o TMF pode diminuir a expressão de  $\alpha$ -sinucleína e diminuir a ativação da microglia pela mediação das vias inflamatórias TLR4/PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B.

Os estudos em doentes com Parkinson também demonstraram alguns benefícios do TMF. Kuai e colaboradores (89) testaram o TMF, durante doze semanas, em dez doentes, e observaram melhorias na obstipação e instabilidade postural e diminuição das dificuldades na marcha, traduzindo-se numa redução da pontuação nos *scores* de Hoehn e Yahr, UPDRS (parte III, que corresponde aos sintomas motores) e NMSS. A melhoria dos sintomas não motores como a ansiedade, depressão e qualidade do sono foi reportada por Xue e colaboradores (90) num estudo preliminar em doze doentes após doze semanas, assim como uma redução significativa da pontuação na parte III do *score* UPDRS. A eficácia do tratamento durou, em média, seis meses nos doentes com TMF por colonoscopia e foi reportada uma resposta satisfatória em dois doentes durante um período de mais de dois anos. No reporte de um caso por Huang e colaboradores (91) foi observada uma redução na obstipação que se manteve por três meses e a diminuição do tremor de repouso dos membros inferiores que foi quase curativa na primeira semana após o TMF, mas que voltou a perto do estado inicial após dois meses.

O tratamento com TMF parece ser seguro e os efeitos adversos são ligeiros e auto-limitados, sendo que os mais reportados são as dores abdominais e flatulência (89,90).

### 9.3. Ginseng vermelho coreano (*Panax ginseng*) e FLZ

Assumindo o intestino como alvo terapêutico, têm surgido outras possibilidades testadas em modelos animais da DP além da modificação da composição da microbiota.

O Ginseng vermelho coreano é extraído da raiz de uma planta asiática, espécie *Panax ginseng*, que tem potencial para ser usado na DP tendo em conta que a administração oral em murganhos parece reduzir os efeitos do MPTP, suprimindo a redução das junções de oclusão no cólon e o aumento das citocinas inflamatórias, como o TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , e a agregação de  $\alpha$ -sinucleína no cólon e no SNC (92,93). Também observaram uma redução da ativação da microglia e dos astrócitos, uma diminuição da perda de neurónios dopaminérgicos da via nigrostriatal e alterações na composição da microbiota com efeitos anti-inflamatórios (diminuição da abundância das espécies do filo Verrucomicrobia e dos géneros *Ruminococcus* e *Akkermansia* e o aumento da abundância do género *Eubacterium*) (93).

Um composto sintético derivado de uma planta chinesa (*Annona glabra*), denominado como FLZ (formulado como N-[2-(4-hidroxi-fenil)-etil]-2-(2,5-dimetoxi-fenil)-3-(3-metoxi-4-hidroxi-fenil)-acrilamida), tem sido testado por administração oral em murganhos e parece reduzir os défices motores provocados pela administração oral de rotenona nestes animais, através da regulação da composição da microbiota intestinal, diminuindo a resposta inflamatória intestinal e cerebral por meio da via TLR4/MyD88/NF-kB (94).

## 10. Conclusão

O eixo intestino-cérebro tem sido estudado nos últimos anos com o objetivo de descobrir a sua importância para a etiologia de várias doenças neuropsiquiátricas e neurodegenerativas. Neste sentido, o estudo da microbiota intestinal tem permitido realizar algumas correlações e têm sido sugeridos alguns mecanismos que poderão ter relevância nas várias doenças em foco.

A composição da microbiota intestinal em doentes com Parkinson tem revelado várias alterações que podem permitir um método de diagnóstico precoce ou até um alvo terapêutico no futuro pelo que tem sido um nicho de investigação muito explorado. Contudo, os estudos realizados apresentam várias limitações, nomeadamente: a variação geográfica das populações estudadas, as amostras populacionais reduzidas, os desenhos de estudo maioritariamente correlativos e os métodos de identificação bacteriana (a maior parte dos estudos caracteriza a microbiota com base na sequenciação génica e não no seu metabolismo, não permitindo assim deduzir a sua atividade). Além disso, a maioria das hipóteses foram testadas, essencialmente, em modelos animais da DP, tendo implicitamente algumas limitações.

A análise da abundância relativa dos diferentes níveis taxonómicos também pode não refletir fielmente a importância de cada *taxa*, pelo que a complexidade de interações entre diferentes comunidades deve ser considerada, assim como a dificuldade de reproduzir em modelos animais da DP o ecossistema intestinal em seres humanos.

O papel da microbiota intestinal tem sido atribuído à ação bacteriana, e têm estado longe dos holofotes o impacto de vírus, parasitas e fungos para a etiopatogenia da doença, pelo que devem ser considerados em estudos futuros. A análise em maior pormenor de outras áreas do sistema gastrointestinal, como o esófago, estômago e o intestino delgado, que podem ter impacto na microbiota também deve ser considerada.

Os resultados que têm sido obtidos parecem promissores e parecem encaminhar, cada vez mais, para uma especial relevância da regulação intestinal como mediador do desenvolvimento da patologia, tendo em conta a sua variabilidade ao longo da vida, em estados de saúde e doença. A problemática do sobreuso de antibióticos pode também refletir-se como potenciador de determinados processos patológicos.

A pesquisa de biomarcadores, da etiologia da doença, a procura da melhoria dos sintomas (seja por uma melhor eficácia terapêutica ou até pelo uso de probióticos como terapia) ou até o retardar da progressão da doença podem ser promissores e possibilidades de investigação e aplicabilidade clínica no futuro.

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

## 11. Referências Bibliográficas

1. Parkinson J. An essay on the shaking palsy. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*. 1817; 14(2): 223–236. DOI: 10.1176/jnp.14.2.223
2. Poewe W, Seppi K, Tanner CM, Halliday GM, Brundin P, Volkman J, et al. Parkinson disease. *Nature Reviews Disease Primers*. 2017; 3(1):1–21. DOI:10.1038/nrdp.2017.13
3. Bloem BR, Okun MS, Klein C. Parkinson's disease. *The Lancet*. 2021; 397(10291):2284–303. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00218-X
4. Del Rey NLG, Quiroga-Varela A, Garbayo E, Carballo-Carbajal I, Fernández-Santiago R, Monje MHG, et al. Advances in parkinson's disease: 200 years later. *Frontiers in Neuroanatomy*. 2018; 12(113): 1-14. DOI: 10.3389/fnana.2018.00113
5. Scott GD, Lim MM, Drake MG, Woltjer R, Quinn JF. Onset of Skin, Gut, and Genitourinary Prodromal Parkinson's Disease: A Study of 1.5 Million Veterans. *Movement Disorders*. 2021;36(9):2094–103. DOI: 10.1002/mds.28636
6. Chaudhuri KR, Martinez-Martin P, Brown RG, Sethi K, Stocchi F, Odin P, et al. The metric properties of a novel non-motor symptoms scale for Parkinson's disease: Results from an international pilot study. *Movement Disorders*. 2007; 22(13):1901–11. DOI: 10.1002/mds.21596
7. Jenkinson C, Fitzpatrick R, Peto V, Greenhall R, Hyman N. The Parkinson's Disease Questionnaire (PDQ-39): development and validation of a Parkinson's disease summary index score. *Age and Ageing*. 1997; 26(5):353–7. DOI: 10.1093/ageing/26.5.353
8. Goetz CG, Tilley BC, Shaftman SR, Stebbins GT, Fahn S, Martinez-Martin P, et al. Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): Scale presentation and clinimetric testing results. *Movement Disorders*. 2008; 23(15):2129–70. DOI: 10.1002/mds.22340

9. Goetz CG, Poewe W, Rascol O, Sampaio C, Stebbins GT, Counsell C, et al. Movement Disorder Society Task Force report on the Hoehn and Yahr staging scale: Status and recommendations The Movement Disorder Society Task Force on rating scales for Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2004; 19(9):1020–8. DOI: 10.1002/mds.20213
10. Braak H, Tredici K del, Rüb U, de Vos RAI, Jansen Steur ENH, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiology of Aging*. 2003;24(2):197-211. DOI: 10.1016/s0197-4580(02)00065-9
11. Braak H, de Vos RAI, Bohl J, del Tredici K. Gastric  $\alpha$ -synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neuroscience Letters*. 2006; 396(1):67–72. DOI: 10.1016/j.neulet.2005.11.012
12. Shannon KM, Keshavarzian A, Mutlu E, Dodiya HB, Daian D, Jaglin JA, et al. Alpha-synuclein in colonic submucosa in early untreated Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2012; 27(6):709–15. DOI: 10.1002/mds.23838
13. Cersosimo MG, Raina GB, Pecci C, Pellene A, Calandra CR, Gutiérrez C, et al. Gastrointestinal manifestations in Parkinson's disease: Prevalence and occurrence before motor symptoms. *Journal of Neurology*. 2013 ;260(5):1332–8. DOI: 10.1007/s00415-012-6801-2
14. Horsager J, Andersen KB, Knudsen K, Skjærbæk C, Fedorova TD, Okkels N, et al. Brain-first versus body-first Parkinson's disease: a multimodal imaging case-control study. *Brain*. 2020;143(10):3077–88. DOI: 10.1093/brain/awaa238
15. Hopfner F, Künstner A, Müller SH, Künzel S, Zeuner KE, Margraf NG, et al. Gut microbiota in Parkinson disease in a northern German cohort. *Brain Research*. 2017; 1667:41–5. DOI: 10.1016/j.brainres.2017.04.019
16. Unger MM, Spiegel J, Dillmann KU, Grundmann D, Philippeit H, Bürmann J, et al. Short chain fatty acids and gut microbiota differ between patients with Parkinson's disease and age-matched controls. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2016; 32:66–72. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2016.08.019

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

17. Keshavarzian A, Green SJ, Engen PA, Voigt RM, Naqib A, Forsyth CB, et al. Colonic bacterial composition in Parkinson's disease. *Movement Disorders*. 2015; 30(10): 1351-60. DOI: 10.1002/mds.26307
18. Yan Z, Yang F, Cao J, Ding W, Yan S, Shi W, et al. Alterations of gut microbiota and metabolome with Parkinson's disease. *Microbial Pathogenesis*. 2021; 160(105187): 1-8. DOI: 10.1016/j.micpath.2021.105187
19. Ren T, Gao Y, Qiu Y, Jiang S, Zhang Q, Zhang J, et al. Gut Microbiota Altered in Mild Cognitive Impairment Compared With Normal Cognition in Sporadic Parkinson's Disease. *Frontiers in Neurology*. 2020; 11 (137): 1-8. DOI: 10.3389/fneur.2020.00137
20. Li C, Cui L, Yang Y, Miao J, Zhao X, Zhang J, et al. Gut Microbiota Differs Between Parkinson's Disease Patients and Healthy Controls in Northeast China. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2019; 12 (171): 1-13. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00171
21. Cosma-Grigorov A, Meixner H, Mrochen A, Wirtz S, Winkler J, Marxreiter F. Changes in Gastrointestinal Microbiome Composition in PD: A Pivotal Role of Covariates. *Frontiers in Neurology*. 2020; 11 (1041): 1-13. DOI: 10.3389/fneur.2020.01041
22. Scheperjans F, Aho V, Pereira PAB, Koskinen K, Paulin L, Pekkonen E, et al. Gut microbiota are related to Parkinson's disease and clinical phenotype. *Movement Disorders*. 30(3):350-8. DOI: 10.1002/mds.26069
23. Vascellari S, Palmas V, Melis M, Pisanu S, Cusano R, Uva P, et al. Gut Microbiota and Metabolome Alterations Associated with Parkinson's Disease. *mSystems*. 2020; 5(5): e00561-20: 1-15. DOI: 10.1128/mSystems.00561-20
24. Li W, Wu X, Hu X, Wang T, Liang S, Duan Y, et al. Structural changes of gut microbiota in Parkinson's disease and its correlation with clinical features. *Science China Life Sciences*. 2017; 60(11):1223-33. DOI: 10.1007/s11427-016-9001-4

25. Zhang F, Yue L, Fang X, Wang G, Li C, Sun X, et al. Altered gut microbiota in Parkinson's disease patients/healthy spouses and its association with clinical features. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2020; 81:84–8. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2020.10.034
26. Li Z, Lu G, Li Z, Wu B, Luo E, Qiu X, et al. Altered Actinobacteria and Firmicutes Phylum Associated Epitopes in Patients With Parkinson's Disease. *Frontiers in Immunology*. 2021; 12 (632482): 1-14. DOI: 10.3389/fimmu.2021.632482
27. Lin CH, Chen CC, Chiang HL, Liou JM, Chang CM, Lu TP, et al. Altered gut microbiota and inflammatory cytokine responses in patients with Parkinson's disease. *Journal of Neuroinflammation*. 2019; 16(1):1–9. DOI: 10.1186/s12974-019-1528-y
28. Petrov VA, Saltykova I v., Zhukova IA, Alifirova VM, Zhukova NG, Dorofeeva YuB, et al. Analysis of Gut Microbiota in Patients with Parkinson's Disease. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2017;162(6):734–7. DOI: 10.1007/s10517-017-3700-7
29. Jin M, Li J, Liu F, Lyu N, Wang K, Wang L, et al. Analysis of the Gut Microflora in Patients With Parkinson's Disease. *Frontiers in Neuroscience*. 2019; 13 (1184): 1-9. DOI: 10.3389/fnins.2019.01184
30. Li F, Wang P, Chen Z, Sui X, Xie X, Zhang J. Alteration of the fecal microbiota in North-Eastern Han Chinese population with sporadic Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*. 2019; 707 (134297): 1-7. DOI: 10.1016/j.neulet.2019.134297
31. Zapala B, Stefura T, Wójcik-P, Edziwiatr M, Kabut R, Bałajewicz-Nowak M, Milewicz T, et al. Differences in the Composition of Gut Microbiota between Patients with Parkinson's Disease and Healthy Controls: A Cohort Study. *Journal of Clinical Medicine*. 2021; 10(23): 5698. DOI: 10.3390/jcm10235698
32. King CH, Desai H, Sylvetsky AC, LoTempio J, Ayanyan S, Carrie J, et al. Baseline human gut microbiota profile in healthy people and standard reporting template. *PLoS ONE*. 2019; 14(9): e0206484. DOI: 10.1371/journal.pone.0206484

33. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy DN. Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology*. 2015;21(29): 8787-803. DOI: 10.3748/wjg.v21.i29.8787
34. Alonso VR, Guarner F. Linking the gut microbiota to human health. *British Journal of Nutrition*. 2013; 109 Suppl 2:S21-6. DOI: 10.1017/S0007114512005235
35. Bull MJ, Plummer NT. Part 1: The Human Gut Microbiome in Health and Disease. *Integrative Medicine: A Clinician's Journal*. 2014; 13(6): 17-22. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4566439/>
36. Ruan W, Engevik MA, Spinler JK, Versalovic J. Healthy Human Gastrointestinal Microbiome: Composition and Function After a Decade of Exploration. *Digestive Diseases and Sciences*. 2020; 65(3):695–705. DOI: 10.1007/s10620-020-06118-437
37. Flint HJ, Duncan SH, Scott KP, Louis P. Links between diet, gut microbiota composition and gut metabolism. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2015;74(1):13-22. DOI: 10.1017/S0029665114001463
38. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Paslier D le, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473(7346):174–80. DOI: 10.1038/nature09944
39. Yatsunencko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012; 486(7402):222–7. DOI: 10.1038/nature11053
40. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*. 2012; 489(7415):220–30. DOI: 10.1038/nature11550
41. Collins SM, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nature Reviews Microbiology*. 2012;10(11):735–42. DOI: 10.1038/nrmicro287

42. Garrido-Gil P, Rodriguez-Perez AI, Dominguez-Meijide A, Guerra MJ, Labandeira-Garcia JL. Bidirectional Neural Interaction Between Central Dopaminergic and Gut Lesions in Parkinson's Disease Models. *Molecular Neurobiology*. 2018; 55(9):7297–316. DOI: 10.1007/s12035-018-0937-8
43. Arotcarena M-L, Dovero S, Prigent A, Bourdenx M, Camus S, Porras G, et al. Bidirectional gut-to-brain and brain-to-gut propagation of synucleinopathy in non-human primates. *Brain*. 2020; 143(5):1462–75. DOI: 10.1093/brain/awaa096
44. Matsumoto M, Kibe R, Ooga T, Aiba Y, Sawaki E, Koga Y, et al. Cerebral Low-Molecular Metabolites Influenced by Intestinal Microbiota: A Pilot Study. *Frontiers in Systems Neuroscience*. 2013; 7(9): 1-19. DOI: 10.3389/fnsys.2013.00009
45. Ranuh R, Athiyah AF, Darma A, Risky VP, Riawan W, Surono IS, et al. Effect of the probiotic *Lactobacillus plantarum* IS-10506 on BDNF and 5HT stimulation: role of intestinal microbiota on the gut-brain axis. *Iranian Journal of Microbiology*. 2019;11(2):145-150. DOI: 10.18502/ijm.v11i2.1077
46. Svensson E, Horváth-Puhó E, Thomsen RW, Djurhuus JC, Pedersen L, Borghammer P, et al. Vagotomy and subsequent risk of Parkinson's disease. *Annals of Neurology*. 2015; 78(4):522–9. DOI: 10.1002/ana.24448
47. Holmqvist S, Chutna O, Bousset L, Aldrin-Kirk P, Li W, Björklund T, et al. Direct evidence of Parkinson pathology spread from the gastrointestinal tract to the brain in rats. *Acta Neuropathologica*. 2014;128(6):805–20. DOI: 10.1007/s00401-014-1343-6
48. Braak H, Rüb U, Gai WP, del Tredici K. Idiopathic Parkinson's disease: Possible routes by which vulnerable neuronal types may be subject to neuroinvasion by an unknown pathogen. *Journal of Neural Transmission*. 2003;110(5):517–36. DOI: 10.1007/s00702-002-0808-2
49. Burke RE, Dauer WT, Vonsattel JP. A critical evaluation of the Braak staging scheme for Parkinson's disease. *Annals of Neurology*. 2008;64(5):485-91. DOI:10.1002/ana.21541

50. Lozupone CA, Knight R. Species Divergence and the Measurement of Microbial Diversity. *FEMS Microbiology Reviews*. 2008;32(4):557-78. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2008.00111.x
51. Singh Y, Trautwein C, Dhariwal A, Salker MS, Alauddin M, Zizmare L, et al. DJ-1 (Park7) affects the gut microbiome, metabolites and the development of innate lymphoid cells (ILCs). *Scientific Reports* 2020; 10(1):1–19. DOI: 10.1038/s41598-020-72903-w
52. Chien CH, Lee MJ, Liou HC, Liou HH, Fu WM. Microglia-Derived Cytokines/Chemokines Are Involved in the Enhancement of LPS-Induced Loss of Nigrostriatal Dopaminergic Neurons in DJ-1 Knockout Mice. *PLOS ONE*. 2016; 11(3): e0151569. DOI: 10.1371/journal.pone.0151569
53. Matheoud D, Cannon T, Voisin A, Penttinen AM, Ramet L, Fahmy AM, et al. Intestinal infection triggers Parkinson's disease-like symptoms in Pink1<sup>-/-</sup> mice. *Nature*. 2019;571(7766):565–9. DOI: 10.1038/s41586-019-1405-y
54. Bhattarai Y, Si J, Pu M, Ross OA, McLean PJ, Till L, et al. Role of gut microbiota in regulating gastrointestinal dysfunction and motor symptoms in a mouse model of Parkinson's disease. *Gut microbes*. 2021; 13(1). 1866974-9. DOI: 10.1080/19490976.2020.1866974
55. Sampson TR, Debelius JW, Thron T, Janssen S, Shastri GG, Ilhan ZE, et al. Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell*. 2016;167(6):1469-1480. DOI: 10.1016/j.cell.2016.11.018
56. Schwieritz A, Spiegel J, Dillmann U, Grundmann D, Bürmann J, Faßbender K, et al. Fecal markers of intestinal inflammation and intestinal permeability are elevated in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2018; 50:104–7. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2018.02.022
57. Dumitrescu L, Marta D, Dănău A, Lefter A, Tulbă D, Cozma L, et al. Serum and Fecal Markers of Intestinal Inflammation and Intestinal Barrier Permeability Are

Elevated in Parkinson's Disease. *Frontiers in Neuroscience*. 2021;15: 689723. DOI: 10.3389/fnins.2021.689723

58. Forsyth CB, Shannon KM, Kordower JH, Voigt RM, Shaikh M, Jaglin JA, et al. Increased intestinal permeability correlates with sigmoid mucosa alpha-synuclein staining and endotoxin exposure markers in early Parkinson's disease. *PLOS One*. 2011; 6(12): 1-8. DOI: 10.1371/journal.pone.0028032
59. Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*. 2004; 54(Pt 5):1469–76. DOI: 10.1099/ijs.0.02873-0
60. Desai MS, Seekatz AM, Koropatkin NM, Kamada N, Hickey CA, Wolter M, et al. A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell*. 2016; 167(5):1339-1353. DOI: 10.1016/j.cell.2016.10.043
61. Feng Y, Huang Y, Wang Y, Wang P, Song H, Wang F. Antibiotics induced intestinal tight junction barrier dysfunction is associated with microbiota dysbiosis, activated NLRP3 inflammasome and autophagy. *PLOS ONE*. 2019; 14(6): e0218384. DOI: 10.1371/journal.pone.0218384
62. Seregin SS, Golovchenko N, Schaf B, Chen J, Pudlo NA, Mitchell J, et al. NLRP6 Protects Il10<sup>-/-</sup> Mice from Colitis by Limiting Colonization of *Akkermansia muciniphila*. *Cell Reports*. 2017;19(4): 733–45. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.03.080
63. Wu Q, Zhang Y, Zhang Y, Xia C, Lai Q, Dong Z, et al. Potential effects of antibiotic-induced gut microbiome alteration on blood-brain barrier permeability compromise in rhesus monkeys. *Annals of The New York Academy of Sciences*. 2020; 1470(1):14–24. DOI: 10.1111/nyas.14312.
64. Feng Y, Wang Y, Wang P, Huang Y, Wang F. Short-Chain Fatty Acids Manifest Stimulative and Protective Effects on Intestinal Barrier Function Through the Inhibition of NLRP3 Inflammasome and Autophagy. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018; 49(1):190–205. DOI: 10.1159/000492853.

65. Liu H, Wang J, He T, Becker S, Zhang G, Li D, et al. Butyrate: A Double-Edged Sword for Health? *Advances in Nutrition*. 2018; 9(1):21–9. DOI: 10.1093/advances/nmx009.
66. Cannon T, Sinha A, Trudeau LE, Maurice CF, Gruenheid S. Characterization of the intestinal microbiota during *Citrobacter rodentium* infection in a mouse model of infection-triggered Parkinson's disease. *Gut Microbes*. 2020; 12(1):1–11. DOI: 10.1080/19490976.2020.1830694.
67. Esteves AR, Munoz-Pinto MF, Nunes-Costa D, Candeias E, Silva DF, Magalhães JD, et al. Footprints of a microbial toxin from the gut microbiome to mesencephalic mitochondria. *Gut*. 2021; 0:1–17. DOI: 10.1136/gutjnl-2021-326023
68. Devos D, Lebouvier T, Lardeux B, Biraud M, Rouaud T, Pouclet H, et al. Colonic inflammation in Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*. 2013; 50(1):42–8. DOI: 10.1016/j.nbd.2012.09.007
69. Perez-Pardo P, Dodiya HB, Engen PA, Forsyth CB, Huschens AM, Shaikh M, et al. Role of TLR4 in the gut-brain axis in Parkinson's disease: a translational study from men to mice. *Gut*. 2019; 68(5):829–43. DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316844.
70. Gorecki AM, Preskey L, Bakeberg MC, Kenna JE, Gildenhuis C, MacDougall G, et al. Altered Gut Microbiome in Parkinson's Disease and the Influence of Lipopolysaccharide in a Human  $\alpha$ -Synuclein Over-Expressing Mouse Model. *Frontiers in Neuroscience*. 2019; 13 (839): 1-13. DOI: 10.3389/fnins.2019.00839
71. Choi JG, Kim N, Ju IG, Eo H, Lim SM, Jang SE, et al. Oral administration of *Proteus mirabilis* damages dopaminergic neurons and motor functions in mice. *Scientific Reports*. 2018;8(1):1275. DOI: 10.1038/s41598-018-19646-x
72. Pisa D, Alonso R, Carrasco L. Parkinson's Disease: A Comprehensive Analysis of Fungi and Bacteria in Brain Tissue. *International Journal of Biological Sciences*. 2020; 16(7):1135–52. DOI: 10.7150/ijbs.42257.

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

73. Qian Y, Yang X, Xu S, Huang P, Li B, Du J, et al. Gut metagenomics-derived genes as potential biomarkers of Parkinson's disease. *Brain*. 2020; 143(8):2474–89. DOI: 10.1093/brain/awaa201
74. Mandrekar JN. Receiver Operating Characteristic Curve in Diagnostic Test Assessment. *Journal of Thoracic Oncology*. 2010; 5(9):1315–6. DOI: 10.1097/JTO.obo13e3181ec173d
75. Collins MD, Gibson GR. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1999; 69(5): 1052S-1057S. DOI: 10.1093/ajcn/69.5.1052s
76. Magistrelli L, Amoruso A, Mogna L, Graziano T, Cantello R, Pane M, et al. Probiotics may have beneficial effects in Parkinson's disease: In vitro evidence. *Frontiers in Immunology*. 2019; 10 (969): 1-9. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00969
77. Castelli V, d'Angelol M, Lombardi F, Alfonsetti M, Antonosante A, Catanesi M, et al. Effects of the probiotic formulation SLAB51 in in vitro and in vivo Parkinson's disease models. *Aging*. 2020; 12(5):4641–59. DOI: 10.18632/aging.102927
78. Srivastav S, Neupane S, Bhurtel S, Katila N, Maharjan S, Choi H, et al. Probiotics mixture increases butyrate, and subsequently rescues the nigral dopaminergic neurons from MPTP and rotenone-induced neurotoxicity. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2019; 69:73–86. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2019.03.021
79. Sun J, Li H, Jin Y, Yu J, Mao S, Su KP, et al. Probiotic *Clostridium butyricum* ameliorated motor deficits in a mouse model of Parkinson's disease via gut microbiota-GLP-1 pathway. *Brain, Behavior, and Immunity*. 91:703–15. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.10.014
80. Nurrahma BA, Tsao S-P, Wu C-H, Yeh T-H, Hsieh P-S, Panunggal B, et al. Probiotic Supplementation Facilitates Recovery of 6-OHDA-Induced Motor Deficit via Improving Mitochondrial Function and Energy Metabolism. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2021; 13 (668775): 1-16. DOI: 10.3389/fnagi.2021.668775

81. Tsao S-P, Arumndari Nurrahma B, Kumar R, Wu C-H, Yeh T-H, Chiu C-C, et al. Probiotic Enhancement of Antioxidant Capacity and Alterations of Gut Microbiota Composition in 6-Hydroxydopamin-Induced Parkinson's Disease Rats. *Antioxidants*. 2021; 10(1823): 1-23. DOI: 10.3390/antiox10111823
82. Liao JF, Cheng YF, You ST, Kuo WC, Huang CW, Chiou JJ, et al. *Lactobacillus plantarum* PS128 alleviates neurodegenerative progression in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced mouse models of Parkinson's disease. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2020; 90: 26–46. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.07.036
83. Lu CS, Chang HC, Weng YH, Chen CC, Kuo YS, Tsai YC. The Add-On Effect of *Lactobacillus plantarum* PS128 in Patients With Parkinson's Disease: A Pilot Study. *Frontiers in Nutrition*. 2021; 8 (650053): 1-9. DOI: 10.3389/fnut.2021.650053
84. Chen TJ, Feng Y, Liu T, Wu TT, Chen YJ, Li X, et al. Fisetin Regulates Gut Microbiota and Exerts Neuroprotective Effect on Mouse Model of Parkinson's Disease. *Frontiers in Neuroscience*. 2020; 14 (549037): 1-14. DOI: 10.3389/fnins.2020.549037
85. Becker A, Pierre Schartz G, Gröger L, Grammes N, Galata V, Philippeit H, et al. Effects of Resistant Starch on Symptoms, Fecal Markers and Gut Microbiota in Parkinson's Disease - the RESISTA-PD Trial. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2021; (21)00245-X. DOI: 10.1016/j.gpb.2021.08.009
86. Wang JW, Kuo CH, Kuo FC, Wang YK, Hsu WH, Yu FJ, et al. Fecal microbiota transplantation: Review and update. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2019; 118 Suppl 1:S23–31. DOI: 10.1016/j.jfma.2018.08.011
87. Sun MF, Zhu YL, Zhou ZL, Jia XB, Xu Y da, Yang Q, et al. Neuroprotective effects of fecal microbiota transplantation on MPTP-induced Parkinson's disease mice: Gut microbiota, glial reaction and TLR4/TNF- $\alpha$  signaling pathway. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2018; 70:48–60. DOI: 10.1016/j.bbi.2018.02.005
88. Zhong Z, Chen W, Gao H, Che N, Xu M, Yang L, et al. Fecal Microbiota Transplantation Exerts a Protective Role in MPTP-Induced Parkinson's Disease

via the TLR4/PI3K/AKT/NF- $\kappa$ B Pathway Stimulated by  $\alpha$ -Synuclein. *Neurochemical Research*. 2021; 46(11):3050–8. DOI: 10.1007/s11064-021-03411-0

89. Kuai Xy, Yao Xh, Xu Lj, Zhou Yq, Zhang Lp, Liu Y, et al. Evaluation of fecal microbiota transplantation in Parkinson's disease patients with constipation. *Microbial Cell Factories*. 2021;20(1):1–9. DOI: 10.1186/s12934-021-01589-0
90. Xue LJ, Yang XZ, Tong Q, Shen P, Ma SJ, Wu SN, et al. Fecal microbiota transplantation therapy for Parkinson's disease: A preliminary study. *Medicine*. 2020;99(35): e22035. DOI: 10.1097/MD.00000000000022035
91. Huang H, Xu H, Luo Q, He J, Li M, Chen H, et al. Fecal microbiota transplantation to treat Parkinson's disease with constipation: A case report. *Medicine*. 2019; 98(26): e16163. DOI: 10.1097/MD.00000000000016163
92. Jeon H, Kim HY, Bae CH, Lee Y, Kim S. Korean Red Ginseng Regulates Intestinal Tight Junction and Inflammation in the Colon of a Parkinson's Disease Mouse Model. 2020; 23(12):1231–7. DOI: 10.1089/jmf.2019.4640
93. Jeon H, Bae CH, Lee Y, Kim HY, Kim S. Korean red ginseng suppresses 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced inflammation in the substantia nigra and colon. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2021; 94:410–23. DOI: 10.1016/j.bbi.2021.02.028
94. Zhao Z, Li F, Ning J, Peng R, Shang J, Liu H, et al. Novel compound FLZ alleviates rotenone-induced PD mouse model by suppressing TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B pathway through microbiota-gut-brain axis. *Acta Pharmaceutica Sinica B*. 2021; 11(9):2859-2879. DOI: 10.1016/j.apsb.2021.03.020

## Apêndice I

Tabela 1 - Comparação dos resultados reportados quanto à maior ou menor abundância relativa em termos de filo, família e gênero entre amostras de doentes com Parkinson e controles saudáveis. A tabela está ordenada de forma ascendente, de acordo com a data da publicação. DP= Doença de Parkinson; DCL – Déficit Cognitivo Ligeiro; CN – Cognição Normal; DPD= Doença de Parkinson diagnosticada há mais de 1 ano; DPN = Doença de Parkinson “de novo”

	Amostra	Filo	Família	Gênero
Scheperjans et al. (22)	72 DP e 72 controles saudáveis (Finlândia)	Não analisado	↓Prevotellaceae ↓ Clostridiales Incertae Sedis IV ↑Lactobacillaceae ↑Verrucomicrobiaceae ↑Bradyrhizobiaceae	Não analisado
Keshavarzian et al.(17)	38 DP e 34 controles saudáveis (E.U.A)	↑Bacteroidetes, ↑Proteobacteria ↑Verrucomicrobia	↑Oxalobacteraceae (mucosa)	↑ <i>Akkermansia</i> ↑ <i>Oscillospira</i> ↑ <i>Bacterioides</i> ↑ <i>Ralstonia</i> (mucosa) ↓ <i>Blautia</i> ↓ <i>Roseburia</i> ↓ <i>Coprococcus</i> ↓ <i>Faecalibacterium</i> (mucosa)
Unger et al. (16)	34 DP e 34 controles saudáveis (Alemanha)	↓Bacteroidetes	↑Enterobacteriaceae ↓Prevotellaceae ↓Lactobacillaceae ↓Enterococcaceae	↑ <i>Bifidobacterium</i> ↓ <i>Faecalibacterium</i>
Li et al. (24)	24 DP e 14 controles saudáveis	↑Actinobacteria ↑Proteobacteria ↓Bacteroidetes	↑Enterobacteriaceae ↑Veillonellaceae ↑Erysipelotrichaceae ↑Coriobacteriaceae ↑Streptococcaceae ↑Moraxellaceae ↑Enterococcaceae	↑ <i>Acidaminococcus</i> ↑ <i>Acinetobacter</i> ↑ <i>Megamonas</i> ↑ <i>Megasphaera</i> ↑ <i>Escherichia-Shigella</i> ↑ <i>Streptococcus</i> ↑ <i>Proteus</i> ↑ <i>Enterococcus</i> ↓ <i>Blautia</i> , ↓ <i>Faecalibacterium</i> ↓ <i>Ruminococcus</i>

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

Tabela 2 - Comparação dos resultados reportados quanto à maior ou menor abundância relativa em termos de filo, família e género entre amostras de doentes com Parkinson e controlos saudáveis. (cont.)

	Amostra	Filo	Família	Género
Petrov et al. (28)	89 DP e 66 controlos saudáveis (Rússia)	Não analisado	Não analisado	↑ <i>Christensenella</i> ↑ <i>Catabacter</i> ↑ <i>Lactobacillus</i> ↑ <i>Oscillospira</i> ↑ <i>Bifidobacterium</i> ↓ <i>Dorea</i> ↓ <i>Bacteroides</i> ↓ <i>Prevotella</i> ↓ <i>Faecalibacterium</i>
Hopfner et al. (15)	29 DP e 29 controlos saudáveis (Alemanha)	Sem diferenças significativas	↑Lactobacillaceae ↑Enterococcaceae ↑Barnesiellaceae	Não foi analisado
Li et al. (30)	10 DP e 10 controlos (China - Nordeste)	↓ Bacteroidetes ↑Verrucomicrobia	↑Verrucomicrobiaceae ↑Ruminococcaceae ↑Porphyromonadaceae ↑Pasteurellaceae ↑Hydrogenoanaerobacterium ↑Lachnospiraceae NK4A ↓Prevotellaceae	↑ <i>Akkermansia</i>
Li et al. (20)	51 DP e 48 controlos saudáveis (Nordeste da China)	Sem diferenças significativas	↓Lactobacillaceae	↑ <i>Akkermansia</i> ↑ <i>Prevotella</i> ↓ <i>Lactobacillus</i>
Lin et al. (27)	80 DP e 77 controlos saudáveis (Taiwan)	↑ Verrucomicrobia	Não foi analisado	↑ <i>Akkermansia</i> ↑ <i>Butyricimonas</i> ↑ <i>Veillonella</i> ↑ <i>Odoribacter</i> ↑ <i>Mucispirillum</i> ↑ <i>Bilophila</i> ↑ <i>Enterococcus</i> ↑ <i>Lactobacillus</i> ↑ <i>Parabacteroides</i> ↓ <i>Prevotella</i>

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

Tabela 3 - Comparação dos resultados reportados quanto à maior ou menor abundância relativa em termos de filo, família e género entre amostras de doentes com Parkinson e controlos saudáveis. (cont.)

	Amostra	Filo	Família	Género
Jin et al. (29)	72 DP (59 DPE e 13 DPN) e 48 controlos saudáveis (39 esposas e 9 controlos saudáveis)  (China – Centro)	Sem resultados	↑Turicibacteraceae (DPN) ↑Ruminococcaceae (DPN) ↑Rikenellaceae (DPN) ↑Porphyromonadaceae (DPE) ↑Christensenellaceae (DPE) ↑grupo Clostridialesvadin BB6o (DPE) ↑Rikenellaceae (DPE) ↓Prevotellaceae (DPE) ↓Lactobacillaceae (DPE) ↓Lachnospiraceae (DPE)	↑ <i>Bifidobacterium</i> (DPD) ↑ <i>Alistipes</i> (DPD) ↑ <i>Klebsiella</i> (DPD) ↑ <i>Sellimonas</i> (DPD) ↑ <i>Catenisphaera</i> (DPD) ↑ <i>Tyzzarella</i> (DPD) ↑ <i>Butyricimonas</i> (DPD) ↑ <i>Parabacteroides</i> (DPD) ↑Grupo <i>Christensenellaceae R-7</i> (DPD) ↑ <i>Ruminococcaceae UCG</i> (DPD) ↓ <i>Lactobacillus</i> (DPD) ↓ <i>Prevotella</i> (DPD) ↓ <i>Streptococcus</i> (DPD) ↓ <i>Enterobacter</i> (DPD) ↓ <i>Citrobacter</i> (DPD) ↓ <i>Hungatella</i> (DPD) ↓ <i>Erysipelatoclostridium</i> (DPD) ↓ <i>Veillonella</i> (DPD) ↑ <i>Bulleidia</i> (DPN) ↑ <i>Turicibacter</i> (DPN) ↑ <i>Adlercreutzia</i> (DPN) ↓ <i>Streptococcus</i> (DPN) ↓ <i>Ruminococcus</i> (DPN) ↓ <i>Paraprevotella</i> (DPN)
Ren et al. (19)	13 doentes com Parkinson-DCL, 14 doentes DP-CN e 13 esposas saudáveis  (China central)	↑Actinobacteria (DCL) ↓Bacteroidetes	↑Rikenellaceae (DCL) ↑Ruminococcaceae (DCL)	↑ <i>Blautia</i> (CN) ↑ <i>Ruminococcus</i> (CN) ↑ <i>Alistipes</i> (DCL) ↑ <i>Barnesiella</i> (DCL) ↑ <i>Butyricimonas</i> (DCL) ↑ <i>Odoribacter</i> (DCL) ↑ <i>Anaerotruncus</i> (DCL) ↓ <i>Blautia</i> (DCL) ↓ <i>Ruminococcus</i> (DCL)

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

Tabela 4 - Comparação dos resultados reportados quanto à maior ou menor abundância relativa em termos de filo, família e género entre amostras de doentes com Parkinson e controlos saudáveis. (cont.)

	Amostra	Filo	Família	Género
Vascellari et al.(23)	64 DP e 51 controlos saudáveis (Itália)	↑Actinobacteria, ↑Proteobacteria ↑Verrucomicrobia ↓Bacteroidetes ↓Cyanobacteria	↑Verrucomicrobiaceae ↑Bifidobacteriaceae ↑Streptococcaceae ↑Desulfohalobiaceae ↓Bacteroidaceae ↓Lachnospiraceae ↓Brevibacteriaceae ↓Sphingobacteriaceae	↑ <i>Akkermansia</i> ↑ <i>Escherichia</i> ↑ <i>Bifidobacterium</i> ↑ <i>Streptococcus</i> ↑ <i>Clostridium</i> ↑ <i>Serratia</i> ↑ <i>Veillonella</i> ↑ <i>Prostheco bacter</i> ↑ <i>Enterobacter</i> ↑ <i>Slackia</i> ↓ <i>Bacteroides</i> ↓ <i>Blautia</i> ↓ <i>Lachnospira</i> ↓ <i>Butyrivibrio</i> ↓ <i>Roseburia</i> , ↓ <i>Pseudobutyrvibrio</i> ↓ <i>Brevibacterium</i> ↓ <i>Dolichospermum</i> , ↓ <i>Coprococcus</i> ↓ <i>Odoribacter</i>
Cosma-Grigorov et al. (21)	71 doentes DP e 30 controlos saudáveis (Sul da Alemanha)	↓Firmicutes	↓Lachnospiraceae	↑ <i>Sutterella</i> ↓ <i>Faecalibacterium</i> ↓ <i>Oscillospira</i> ↓ <i>Blautia</i> ↓ <i>Ruminococcus</i>
Zhang et al. (25)	63 DP, 137 controlos (63 cônjuges, 74 controlos saudáveis) (China – Centro)	↑Firmicutes ↑Actinobacteria ↑Verrucomicrobia ↓Bacteroidetes ↓Fusobacteria	Não analisado	↑ <i>Oscillospira</i> ↑ <i>Akkermansia</i> ↓ <i>Fusobacterium</i> ↓ <i>Prevotella</i>
Li et al. (26)	69 DP e 244 controlos (66 cônjuges, 97 emparelhados por idade, e 81 controlos saudáveis) (China – Sul)	↑Actinobacteria ↑Firmicutes	↑Oscillospiraceae ↑Coriobacteriaceae ↑Bifidobacteriaceae ↑Desulfovibrionaceae ↑Lactobacillaceae	↑ <i>Lactobacillus</i> ↑ <i>Collinsella</i> ↑ <i>Oscillibacter</i> ↑ <i>Subdoligranulum</i> ↑ <i>Bifidobacterium</i> ↓ <i>Roseburia</i>

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson

Tabela 5 - Comparação dos resultados reportados quanto à maior ou menor abundância relativa em termos de filo, família e género entre amostras de doentes com Parkinson e controlos saudáveis. (cont.)

	Amostra	Filo	Família	Género
Yan et al. (18)	20 DP e 20 controlos saudáveis (Nordeste da China)	↑Actinobacteria	Não foi analisado	↑ <i>Alistipes</i> ↑ <i>Rikenellaceae_RC9_gut_group</i> ↑ <i>Bifidobacterium</i> ↑ <i>Parabacteroides</i> ↑ <i>Sphingomonas</i> ↑ <i>Ruminococcaceae_UCG-005</i> ↑ <i>Agathobacter</i> ↑ <i>Gemmatimonas</i> ↓ <i>Faecalibacterium</i>
Zapala et al. (31)	27 DP e 44 controlos saudáveis (Polónia)	↑Bacteroidetes ↑Verrucomicrobia	Não foi analisado	↑ <i>Butyricimonas</i> , ↑ <i>Robinsoniella</i> ↑ <i>Flavonifractor</i> ↑ <i>Akkermansia</i> ↑ <i>Eubacterium</i> ↑ <i>Parabacteroides</i> ↓ <i>Faecalibacterium</i> ↓ <i>Fusicatenibacter</i> ↓ <i>Ruminococcus</i> ↓ <i>Blautia</i>

## O papel da microbiota intestinal na doença de Parkinson