UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

Mila Severo Noronha

O EFEITO DA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM CASOS DE EPILEPSIA: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Porto Alegre
2023

Mila Severo Noronha

O EFEITO DA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM CASOS DE EPILEPSIA: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Biomedicina.

Orientadora: Profa. Dra. Adriana Simon Coitinho

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Noronha, Mila Severo
O EFEITO DA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM CASOS DE EPILEPSIA: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA / Mila Severo Noronha. -- 2023.
45 f.
Orientador: Adriana Simon Coitinho.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Curso de Biomedicina, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Epilepsia. 2. Modulação da microbiota intestinal. 3. Suplementação de probióticos. 4. Antibióticos. 5. Transplante de microbiota fecal. I. Coitinho, Adriana Simon, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Mila Severo Noronha

O EFEITO DA MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM CASOS DE EPILEPSIA: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharela em Biomedicina.

Aprovado em 24 de março de 2023.

BANCA EXAMINADORA

_____

Profa. Dra. Gertrudes Corção - UFRGS

_____

Profa. Dra. Maria Elisa Calcagnotto - UFRGS

_____

Profa. Dra. Adriana Simon Coitinho – UFRGS (orientadora)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, porque sem Ele nada disso seria possível.

Quero agradecer à minha mãe, dona Eva, e ao meu irmão Samuel, que sem dúvida são as pessoas mais pacientes do mundo pois, sempre ajudaram e apoiaram muito ao longo de toda a graduação. Agradecer a Dáda, a Mariana e a tia Deni que além de ouvirem minhas reclamações foram, muitas vezes, as pessoas que deixaram toda essa experiência muito mais leve. À toda família Severo/Corrêa/Noronha que sempre me encorajaram com palavras, conselhos, conforto, risadas, foram muito presentes nesses anos de graduação, e nunca me deixaram desistir.

Aos professores que tive durante essa jornada, todos foram essenciais para que eu chegasse a este momento.

Às professoras Célia Carlini, Arlete Becker e Fernanda Lopes que viram meu potencial antes mesmo de entrar na UFRGS, e que me auxiliaram desde o cursinho pré-vestibular. Aos doutores Ana Paula Perin e Matheus Grahl que me guiaram no meu primeiro contato com o laboratório, parte disso também é de vocês. Ao professor Hugo Verli que muitas vezes me tranquilizou.

À professora Adriana Simon Coitinho que desde a disciplina de Imunologia Biomédica sempre foi muito atenciosa, e me orientou durante o TCC, muito obrigada por ter confiado em mim e por ter me dado a honra de ser orientada pela senhora.

À Claudia Grabinski, a melhor chefe do mundo, que nunca mediu esforços para fazer com que essa experiência fosse a mais tranquila possível.

Às minhas amigas e colegas de curso: Cinthia que foi a pessoa que mais dividiu a enxurrada de emoções comigo. Débora que é a alegria em pessoa, capaz de colocar um sorriso no rosto de qualquer um. Gabriela, que foi uma das pessoas que eu mais pude contar. Natasha, que comemorou as vitórias comigo, comendo torta no Bar do Antônio. Stefani que com seus ótimos conselhos manteve meus pés no chão e Thaisla que me salvou inúmeras vezes.

Tenho muita sorte, só seria possível trilhar esse caminho com uma rede de apoio dessas. Vocês têm um espaço enorme no meu coração e nunca vou esquecer disso. Muito obrigada por tudo.

RESUMO

A epilepsia é um dos distúrbios neurológicos mais comuns do mundo. Mesmo com uma ampla oferta de medicamentos disponíveis no mercado, aproximadamente 30% dos afetados não são beneficiados pelo tratamento farmacológico. Em animais, abordagens não-farmacológicas estão sendo testadas para reforçar o tratamento farmacológico e a dieta cetogênica. Neste trabalho de revisão, abordou-se o funcionamento do eixo intestino-cérebro e da sua modulação em casos de epilepsia. Através do que se sabe sobre a comunicação entre estas estruturas, o principal objetivo de alguns tratamentos é modular a microbiota intestinal de maneira a favorecer espécies bacterianas relacionadas à microbiota saudável. Estudos demonstram que a modulação da microbiota confere efeitos neuroprotetores quando associada à dieta cetogênica através do aumento dos gêneros bacterianos *Firmicutes, Bacteroidetes e Bifidobacterium*, do aumento do metabolismo do triptofano pela via da quinurenina, modulação de GABA e inibição de citocinas pró-inflamatórias. Além disso, foram abordadas e discutidas diferentes alternativas para serem incorporadas ao tratamento da epilepsia como: uso de antibióticos, suplementação com probióticos, transplante de microbiota fecal, entre outros. Concluímos então, que apesar de animadores, ainda são necessários novos estudos para melhor elucidar como a modulação da microbiota pode ser utilizada como ferramenta terapêutica na epilepsia.

Palavras-chave: epilepsia; modulação da microbiota; suplementação de probióticos; antibióticos; transplante de microbiota fecal.

ABSTRACT

Epilepsy is one of the most common neurological disorders in the world. Even with a wide range of drugs available on the market, approximately 30% of those affected do not benefit from pharmacological treatment. In animals, non-pharmacological approaches are being tested to reinforce pharmacological treatment and the ketogenic diet. In this review, the functioning of the gut-brain axis and its modulation in cases of epilepsy were addressed. Based on what is known about the communication between these structures, the main objective of some treatments is to modulate the intestinal microbiota in order to favor bacterial species related to the healthy microbiota. Studies show that modulation of the microbiota confers neuroprotective effects when associated with the ketogenic diet through the increase of the bacterial genera Firmicutes, Bacteroidetes and Bifidobacterium, the increase of tryptophan metabolism through the kynurenine pathway, GABA modulation and inhibition of pro-inflammatory cytokines. In addition, different alternatives to be incorporated into the treatment of epilepsy were approached and discussed, such as: use of antibiotics, supplementation with probiotics, fecal microbiota transplantation, among others. We therefore conclude that, despite being encouraging, further studies are still needed to better elucidate how microbiota modulation can be used as a therapeutic tool in epilepsy.

Keywords: epilepsy; modulation of the 6intestinal microbiota; probiotic supplementation; antibiotics; fecal microbiota transplantation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – A hipótese do funcionamento da bidirecionalidade da comunicação entre cérebro e intestino. Células do sistema imune ativadas levam a inflamação, a ativação pode decorrer de disfunção neurológica ou variação da microbiota.....15

LISTA DE ABREVIATURAS

ILAE – International League Against Epilepsy

OMS - Organização Mundial da Saúde

SNC – sistema nervoso central

GABA - ácido gama-aminobutírico

NMDA – N-metil D-Aspartato

MGB – *microbiota-gut-brain*

SNA – sistema nervoso autônomo

SNE – sistema nervoso entérico

BHE – barreira hematoencefálica

AGCC - ácidos graxos de cadeia curta

HHA - hipotálamo-hipófise-adrenal

SEC – sistema endocanabinóide

KD – *ketogenic diet*, dieta cetogênica

BHB – beta-hidroxibutirato

AVNM – Ampicilina, Vancomicina, Neomicina, Metronidazol

EI – Espasmos Infantis

PTZ – pentilenotetrazol

VPA - valproato

HTD – *high tryptophan diet*, dieta rica em triptofano

SPF – *specific pathogen free*

CD – dieta controle

EEG - eletroencefalograma

SWDs - *spike-wave discharges*, picos de descarga

FMT – transplante de microbiota fecal

IL-6 – Interleucina 6

TNF-α - fator de necrose tumoral alfa

ECoG - eletrocortigografia

NO - óxido nítrico

TRP - triptofano

KYN - quinurenina

IDO1 - indolamina 2,3-dioxigenase 1

QA - ácido quinolínico

KA - ácido quinurênico

1 MT – 1 metiltriptofano

VIQ – quociente de inteligência verbal

PIQ – quociente de inteligência de desempenho

IL-12B – interleucina 12B

MCP-4 – Proteína quimiocina de monócitos

SUMÁRIO

1 Introdução Compreensiva **11**

1.1 Alvos terapêuticos **11**

1.2 Epilepsia Refratária **12**

1.3 Eixo microbiota-intestino-cérebro (MGB) **14**

1.4 Justificativa **15**

1.5 Objetivos **16**

1.5.1 Objetivo Geral **16**

1.5.2 Objetivos Específicos **16**

2 Artigo Científico **17**

3 Conclusões e Perspectivas **31**

REFERÊNCIAS **32**

ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA CLINICAL & BIOMEDICAL RESEARCH **38**

1 Introdução Compreensiva

A epilepsia é um distúrbio neurológico crônico caracterizado pela alteração temporária e reversível do cérebro e que afeta cerca de 50 milhões de pessoas no mundo (OMS, 2023). A Organização Mundial da Saúde (OMS) revela que além de ser uma das doenças neurológicas mais comuns, a epilepsia ocorre em indivíduos de todas as idades, sendo mais prevalente em países em desenvolvimento (OMS, 2023). Sua manifestação clínica é composta pelas crises epilépticas, nas quais o sistema nervoso central (SNC) é diretamente afetado, pois o número e a duração dos impulsos elétricos são alterados durante a crise, desencadeando a alteração transitória da função neuronal (DEVINSKY; VEZZANI; O'BRIEN, 2018) Dependendo da região de início dessa alteração, o excesso de descargas elétricas nos neurônios é refletido em alterações nas funções sensoriais, motoras, e autonômicas, e ainda no estado emocional, na memória, no conhecimento e no comportamento (FISHER et al., 2005).

A Liga Internacional contra a Epilepsia (ILAE) elaborou um guia de classificação dos tipos de crise de acordo com região de início, envolvimento motor e perturbação da consciência. Crises focais, de início em região definida do cérebro, são caracterizadas pela possibilidade de incluir ou não a perturbação da consciência. Ademais, as crises podem ser classificadas como motora, onde há efetivamente os movimentos súbitos involuntários, ou não motora, com efeitos cognitivos, sensoriais e emocionais. Crises generalizadas têm início em mais de uma região cerebral, e podem também ser classificadas em motora ou não motora, neste caso, a crise de ausência. Quando a região de início da crise não é conhecida, ela é classificada como de início desconhecido, podendo também ser uma crise motora ou não motora com suspensão de atividade (FISHER et al., 2017).

1.1 Alvos Terapêuticos

Os neurotransmissores do SNC corriqueiramente relatados nesta patologia são o glutamato e o ácido gama-aminobutírico (GABA). Derivados de aminoácidos, esses neurotransmissores têm funções opostas, enquanto o glutamato é o principal envolvido na transmissão excitatória, o GABA é encarregado da transmissão inibitória. Mecanismos pré e pós-sinápticos contribuem para a regulação homeostática desses componentes. O

desequilíbrio entre excitação e inibição explica os sintomas observados durante uma crise epiléptica e caracteriza o alvo da terapia farmacológica (RANG; DALE, 2016)

O tratamento farmacológico disponível é composto pela classe de medicamentos denominada de antiepiléticos, separados de acordo com o mecanismo de ação. Apesar do mecanismo ser diferente, o objetivo em comum é regular os níveis dos neurotransmissores do sistema nervoso central (SNC). Os bloqueadores do canal de sódio, como a fenitoína e o ácido valpróico, atuam no neurônio excitatório impedindo o influxo do íon e consequentemente impedindo a despolarização e a liberação de glutamato na fenda sináptica. O ácido valpróico também age como bloqueador do canal de cálcio, no mesmo grupo, a etossuximida impede o influxo de cálcio, o que reduz a corrente que gera alteração do ritmo cerebral durante a crise. Já os potencializadores de GABA, como pregabalina, gabapentina e topiramato modulam a liberação de GABA pelo aumento da afinidade do receptor ou por impedir a recaptação, causando o influxo de cloreto no neurônio pós-sináptico e aumentando a transmissão inibitória (BRUNTON, 2012).

Além destas classes, ainda há fármacos que atuam por outras vias ou por mais de uma. Como por exemplo, o levetiracetam, que se liga a uma glicoproteína das vesículas de glutamato do neurônio pré-sináptico evitando a sua liberação, e o valproato que age como potencializador de GABA, bloqueador do canal de cálcio e bloqueador do receptor N-metil D-Aspartato (NMDA), um dos receptores ionotrópicos de glutamato no neurônio pós-sináptico (BRUNTON, 2012).

1.2 Epilepsia Refratária

As epilepsias comuns são as que possuem mais incidência, sendo elas focais ou generalizadas. Dentre as epilepsias focais generalizadas ou focais se destacam a epilepsia do lobo temporal e epilepsia focal criptogênica. O grupo de crises generalizadas são compostas pela epilepsia mioclônica juvenil, pela epilepsia de ausência na infância, epilepsia de ausência juvenil e pela epilepsia com crise tônico-clônica generalizada ao acordar (BUONO R et al., 2013). A epilepsia do lobo temporal tem um componente anatômico, a esclerose hipocampal que é a principal alteração encontrada no cérebro de pacientes farmacorresistentes, onde a grande perda celular na região facilita o efluxo dos fármacos antiepilépticos dificultando o

tratamento (ARONICA et al., 2012; FELDMANN et al., 2013). Outro tipo de epilepsia que se destaca é a Síndrome de West, que também é conhecida como espasmos infantis, uma encefalopatia epiléptica de início precoce resistente à medicamentos e associada a problemas no desenvolvimento cognitivo (PAVONE et al., 2020). A etiologia da patologia também pode ser genética, por exemplo, mutações nas subunidades SNC1A e SNC1B formadoras do poro do canal de sódio, o maior responsável pela despolarização da membrana, interferem neste processo resultando em epilepsia generalizada (HUBNER, 2002).

O tratamento farmacológico é bem estabelecido, e ainda assim existe um percentual significativo de pacientes farmacorresistentes (BERG, 2014; COCKERELL et al., 1995; GEERTS et al., 2010; KWAN; BRODIE, 2000; SILLANPAA; SCHMIDT, 2008). Apesar da medicação, cerca de 30% dos pacientes com epilepsia, ainda enfrentam consequências adversas significativas ao longo da vida, como morte súbita inesperada por crises epilépticas, aumento do risco de lesões devido à perda de controle dos movimentos e deficiências de aprendizagem e desenvolvimento na idade escolar (CZUCZWAR SJ, 2022), evidenciando a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos ou de novas abordagens terapêuticas.

Após a confirmação do diagnóstico de epilepsia farmacorresistente, tratamentos não-farmacológicos e mudanças no estilo de vida podem ser utilizados com o objetivo de diminuir ou controlar as crises (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). De neuromodulação e tratamentos cirúrgicos a modificações na dieta, o paciente pode sentir uma grande diferença na qualidade de vida quando a adesão e a manutenção do tratamento são realizadas de forma eficaz. A importância do diagnóstico correto e do tratamento personalizado refletem nos números, aproximadamente 70% das pessoas com epilepsia podem viver uma vida livre de crises, desde que sejam devidamente diagnosticadas e tratadas (OMS, 2023a).

Uma abordagem não-farmacológica comum em pacientes com epilepsia farmacorresistente é a dieta cetogênica. Esta dieta, rica em gorduras, pobre em carboidratos e com proteínas adequadas, demonstra efeitos benéficos em pacientes epilépticos desde o início da década de 1920 (UŁAMEK-KOZIOŁ et al., 2019; WHELESS, 2008; YUEN; SANDER, 2014). O mecanismo pelo qual a dieta cetogênica age ainda não é bem compreendido, mas provavelmente a diminuição de glicose sérica induz a troca do substrato energético cerebral para corpos cetônicos e induz a modulação de GABA (ROGAWSKI; LÖSCHER; RHO, 2016). A adição da dieta cetogênica como tratamento no contexto epiléptico promove

aumento do limiar convulsivo podendo diminuir drasticamente o número de crises (NEAL et al., 2008).

1.3 Eixo microbiota-intestino-cérebro (MGB)

Para a compreensão dos mecanismos envolvidos na epilepsia é preciso contemplar os sistemas e estruturas que fazem parte desta patologia. Além do sistema nervoso central (SNC), que é diretamente afetado, o sistema imunológico e o intestino possuem grande relevância.

A ativação do sistema imune causa aumento na síntese de citocinas pró inflamatórias (HOLTMAN et al., 2013) que podem contribuir para o desenvolvimento e a progressão da epilepsia através da degeneração neuronal (SINHA et al., 2008) e da diminuição do limiar convulsivo (RAO et al., 2008; WALKER; SILLS, 2012). Em tecidos saudáveis e em condições fisiológicas, as citocinas estão presentes numa quantidade muito pequena, já em casos de doença neurológica o aumento nos níveis de citocinas é relatado como um marcador biológico (RAO et al., 2008; VIRTA; HURME; HELMINEN, 2002; WALKER; SILLS, 2012).

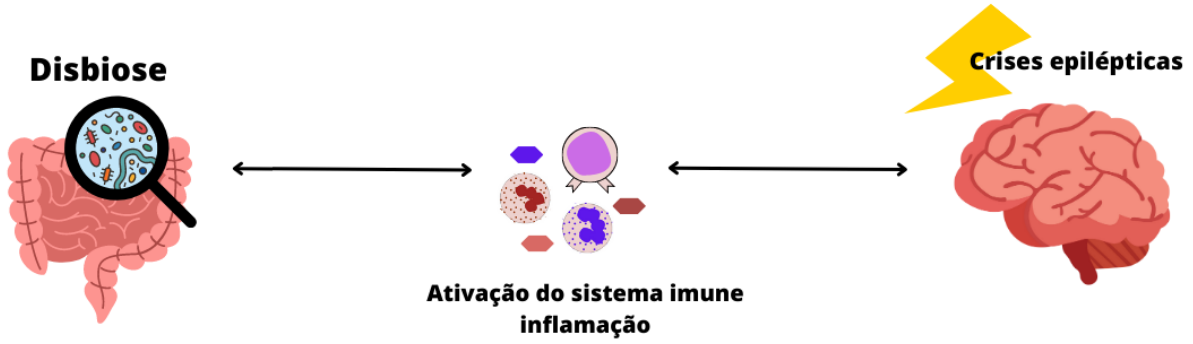
Neste contexto, a importância do intestino é dimensionada quando o termo “segundo cérebro” foi adotado. A grande quantidade de neurônios presentes nessa estrutura pertence a duas vias de comunicação, através do sistema nervoso autônomo (SNA) e do sistema nervoso entérico (SNE) (WANG; WANG, 2016), compondo uma comunicação bidirecional entre intestino e cérebro.

De maneira geral, a microbiota tem um papel fundamental no desenvolvimento, os microrganismos presentes no intestino contribuem para a homeostase, neurogênese, cognição, humor e comportamento. Adicionalmente, a composição taxonômica da microbiota pode influenciar a patogênese e a progressão de diferentes doenças ou transtornos neurológicos além da epilepsia, como doença de Parkinson e Alzheimer (BARICHELLA et al., 2019; HARACH et al., 2017). Outros estudos demonstram que alterações na microbiota intestinal podem ser observadas em pacientes com transtorno do espectro autista e depressão (CHEUNG et al., 2019; XU et al., 2019) A alteração da microbiota intestinal é chamada de disbiose, e é nessas situações em que a função cerebral pode ser afetada devido a

desregulação das vias de comunicação entre as duas estruturas (RUTSCH; KANTSJÖ; RONCHI, 2020).

A hipótese de funcionamento desta via da neuroinflamação mediada por microrganismos intestinais se apoia na alteração da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE). Mais permeável, a BHE permitiria a passagem de neuropeptídios produzidos pela microbiota intestinal, principalmente os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e GABA (LOGSDON et al., 2018; PARKER; FONSECA; CARDING, 2020). A bidirecionalidade da comunicação entre cérebro e microbiota intestinal se dá quando, disfunções neurológicas podem induzir inflamação sistêmica refletindo na microbiota intestinal, mas alterações na microbiota também desencadeiam ativação imunológica e/ou inflamação que é refletida no SNC (PETRA et al., 2015; RUTSCH; KANTSJÖ; RONCHI, 2020). Isso comprova que além da troca de informação ter sentido duplo, ainda é autossustentável (Fig. 1).

Figura 1. A hipótese do funcionamento da bidirecionalidade da comunicação entre cérebro e intestino. Células do sistema imune ativadas levam a inflamação, a ativação pode decorrer de disfunção neurológica ou variação da microbiota.



Fonte: elaborada pela autora.

Além disso, o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA) e o sistema endocanabinóide (SEC) são outros elementos importantes para o eixo intestino-cérebro pois estão envolvidos, respectivamente, na resposta ao estresse e na neuromodulação (FUSCO et al., 2022). A presença de muitas vias relacionadas a este eixo amplia o campo de pesquisa e permite que diversos alvos sejam explorados, visando a administração de um tratamento personalizado e mais eficiente. Especificamente na epilepsia, o interesse pela pesquisa da composição taxonômica e da modulação da microbiota tem aumentado, e como ainda há uma parcela

substancial de pacientes que são farmacorresistentes (OMS, 2023a), a modulação da microbiota intestinal tem potencial para ser incluída como tratamento para epilepsia.

Nesta revisão serão discutidos os efeitos da epilepsia na população microbiana intestinal e como a modulação da microbiota influencia em casos de epilepsia.

1.4 Justificativa

A epilepsia é uma doença que afeta diretamente a qualidade de vida dos pacientes. A forma farmacorresistente desta patologia ainda afeta uma parcela significativa dessa população, evidenciando que o aprimoramento do tratamento é fundamental para garantir a assistência necessária a esses pacientes. Quando a terapia farmacológica usual não controla as crises epilépticas é preciso recorrer a outros meios que consigam ser incluídos no tratamento para aumentar a sua eficiência.

A modulação da microbiota é uma possível candidata ao tratamento concomitante ao tratamento farmacológico, visto que a relação entre intestino e cérebro é bem estabelecida. Para incorporar esta nova abordagem, deve-se compreender os efeitos que a modulação da microbiota terá nesses pacientes. Neste cenário, a pesquisa tem suma importância, tanto para realizar estudos clínicos quanto para revisar a bibliografia em busca dos resultados que já foram obtidos.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo Geral

Fazer uma revisão bibliográfica reunindo resultados da literatura que demonstrem experimentalmente a comunicação entre microbiota intestinal e cérebro em casos de epilepsia.

1.5.2 Objetivos Específicos

a) Relatar as modificações na microbiota intestinal desencadeadas pela epilepsia;

b) Investigar em quais parâmetros a modulação da microbiota interfere na epilepsia em animais;

c) Analisar os efeitos da modulação da microbiota em animais, quando aplicada juntamente com a dieta cetogênica;

d) Verificar a modulação da microbiota apresenta efeito independente;

e) Identificar se já existem resultados obtidos em pacientes humanos.

2 Artigo Científico

O efeito da modulação da microbiota intestinal em casos de epilepsia

Mila Severo Noronha[1], Adriana Simon Coitinho[2]

[1] *Universidade Federal do Rio Grande do Sul.*

[2] *Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.*

ABSTRACT

Epilepsy is one of the most common neurological disorders in the world. Even with a wide range of drugs available on the market, approximately 30% of those affected do not benefit from pharmacological treatment. In this review, different pharmacological and non-pharmacological approaches for the treatment of epilepsy were addressed and discussed, such as the use of antibiotics, probiotic supplementation, fecal microbiota transplantation, among others. Approaches that aim to modulate the intestinal microbiota in order to increase the effectiveness of pharmacological treatment. For this, a literature review was carried out with articles from the last ten years on the subject. Among the results, we have that the modulation of the microbiota confers neuroprotective effects when associated with the ketogenic diet through the increase of *Firmicutes, Bacteroidetes* and *Bifidobacterium*, the increase of tryptophan metabolism through the kynurenine pathway, GABA modulation and inhibition of pro-inflammatory cytokines. We therefore conclude that, despite being

encouraging, further studies are still needed to better elucidate how microbiota modulation can be used as a therapeutic tool in epilepsy.

Keywords: epilepsy; modulation of the intestinal microbiota; probiotic supplementation; antibiotics; fecal microbiota transplantation

RESUMO

A epilepsia é um dos distúrbios neurológicos mais comuns do mundo. Mesmo com uma ampla oferta de medicamentos disponíveis no mercado, aproximadamente 30% dos afetados não são beneficiados pelo tratamento farmacológico. Nesta revisão, foram abordadas e discutidas diferentes abordagens farmacológicas e não-farmacológicas para o tratamento da epilepsia como, uso de antibióticos, suplementação com probióticos, transplante de microbiota fecal entre outros. Abordagens que tem por objetivo modular a microbiota intestinal de maneira a aumentar a eficácia do tratamento farmacológico. Para isso, realizou-se uma revisão na literatura com artigos dos últimos dez anos sobre o tema. Entre os resultados temos que a modulação da microbiota confere efeitos neuroprotetores quando associada à dieta cetogênica através do aumento de *Firmicutes, Bacteroidetes* e *Bifidobacterium*, do aumento o metabolismo do triptofano pela via da quinurenina, modulação de GABA e inibição de citocinas pró-inflamatórias. Concluímos então, que apesar de animadores, ainda são necessários novos estudos para melhor elucidar como a modulação da microbiota pode ser utilizada como ferramenta terapêutica na epilepsia.

Palavras-chave: epilepsia; modulação da microbiota intestinal; suplementação de probióticos; antibióticos; transplante de microbiota fecal.

INTRODUÇÃO

A epilepsia é um distúrbio neurológico caracterizado pela alteração reversível e temporária do cérebro e que atinge cerca de 50 milhões de pessoas no mundo todo. Sua manifestação clínica é composta pelas crises epilépticas, onde os impulsos elétricos dos neurônios ficam desordenados podendo afetar diversos parâmetros como a função sensorial, motora e autonômica, o estado emocional, a memória, o conhecimento e o comportamento (OMS, 2023). A epilepsia não tem cura, o tratamento farmacológico disponível inibe as crises epilépticas, mas não é profilático e, mesmo que bem estabelecido, ainda existe uma parcela significativa de pacientes que não são beneficiados pela terapia farmacológica (OMS, 2023). Desta forma, evidenciando a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos ou novas estratégias de tratamento.

Na epilepsia, diferentes componentes estão envolvidos. Além do sistema nervoso central (SNC), que é diretamente afetado, o sistema imunológico e o intestino possuem grande relevância. A perturbação dos neurônios durante uma crise epiléptica desencadeia uma resposta imunológica, ativando células e citocinas pró inflamatórias, ou seja, além do SNC o sistema imune tem grande relevância nesta patologia. Quando ativas, estas células podem induzir um aumento na permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE), permitindo a interação dos metabólitos produzidos pela microbiota intestinal e o SNC.

De maneira geral, a microbiota tem um papel fundamental no desenvolvimento, os microrganismos presentes no intestino contribuem para a homeostase, a função cerebral e o comportamento, podendo influenciar na epileptogênese e na progressão de outras doenças neurológicas, além da epilepsia. A condição na qual a microbiota está alterada é chamada de disbiose, podendo ser relacionada a mudanças na função cerebral (RUTSCH; KANTSJÖ; RONCHI, 2020). Existem trabalhos publicados relacionando a disbiose a problemas neurológicos como Doença de Alzheimer, Doença de Parkinson, transtorno do espectro autista e depressão (BARICHELLA et al., 2019; CHEUNG et al., 2019; HARACH et al., 2017; XU et al., 2019). Agora, com a participação do intestino, do eixo microbiota-intestino-cérebro e da sua bidirecionalidade, explorar essa estrutura pode ser a chave para o desenvolvimento de um tratamento mais eficaz para a epilepsia em pacientes farmacorresistentes.

Nesta revisão estão relatadas as modificações na microbiota intestinal desencadeadas pela epilepsia e os resultados já existentes da modulação da microbiota em casos de epilepsia

em fase pré-clínica e clínica que foram alcançados ou pela dieta, ou pela recolonização da população microbiana intestinal ou pela sua extinção.

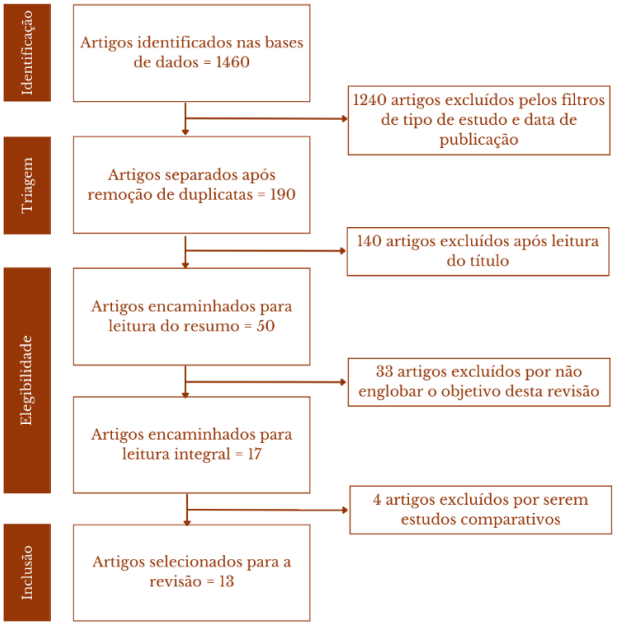
MÉTODOS

Pesquisa bibliográfica

A pesquisa bibliográfica foi realizada a partir da busca conjunta pelos termos “gut microbiota” e ”epilepsy” em cinco bases de dados: Pubmed, ScienceDirect, EMBASE, Scopus e Web of Science. A relação entre microbiota e epilepsia é relativamente nova, se comparada ao que já se sabe sobre o eixo intestino-cérebro. Para garantir a atualidade dos resultados, artigos do período entre 2012 até 2022 foram considerados. Editoriais, meta-análises, revisões bibliográficas, revisões sistemáticas, livros e capítulos de livros foram excluídos.

A pesquisa inicial resultou em 1460 artigos. Em todas as bases de dados consultadas, os mesmos filtros foram aplicados: data de publicação e tipo de estudo, artigos originais, ensaios clínicos randomizados e relatos de caso foram considerados. Após aplicação dos filtros os resultados diminuíram para 220 artigos. A remoção das duplicatas revelou 190 artigos, destes, pela leitura do título, 50 foram encaminhados para a leitura do resumo. Ao verificar que haviam estudos que focavam na modificação da microbiota como sendo um efeito da epilepsia, estes trabalhos foram excluídos, pois este não é objetivo desta revisão. Com 17 resultados encaminhados para a leitura integral, 4 foram excluídos por fugir do tema, sendo estudos comparativos. O resultado final foi de 13 trabalhos incluídos na revisão, e em todos foram verificadas as mudanças observadas após a modulação da microbiota (Figura 1). Destes, 9 artigos são de estudos realizados com animais e 4 artigos relatam resultados observados em pacientes humanos. As abordagens utilizadas para modular a população microbiana intestinal de humanos e animais foram a dieta cetogênica, dieta rica em triptofano, antibióticos, probióticos e anti-inflamatórios. Apesar de os objetivos dos artigos serem os mesmos, que são relatar os efeitos da modulação da microbiota sendo aplicada isoladamente ou com o propósito de aumentar a eficácia de um tratamento já adotado, a maneira com que esses estudos foram conduzidos são distintas.

Figura 1. Fluxograma da pesquisa bibliográfica



RESULTADOS

Diversidade: riqueza e composição taxonômica da microbiota

Dentre os estudos, para avaliar a riqueza e a composição taxonômica da microbiota foram utilizados os parâmetros de diversidade alfa e beta, e índices que fazem referência a estas medidas. A diversidade alfa reflete a abundância de espécies dentro de determinada comunidade, ou seja, a riqueza, já a diversidade beta retrata as diferenças na composição da comunidade microbiana.

Para investigar as mudanças na composição taxonômica e na riqueza de espécies microbianas foram realizadas as análises de conteúdo fecal. A diversidade alfa, ou seja, a abundância de espécies microbianas mostrou-se elevada após dieta cetogênica, quando aplicada sozinha (MU et al., 2022a) e após dieta rica em triptofano (YUE et al., 2021). A diversidade beta sofreu diferença significativa após tratamento com prednisolona (DE LIMA et al., 2022), algo semelhante ao observado no tratamento com Diazepam, fármaco

comumente utilizado para epilepsia. Estes parâmetros também são alterados quando há suplementação de misturas contendo bactérias vivas (BAGHERI et al., 2019; EOR et al., 2021a, 2021b; KIZILASLAN; SUMBUL; AYGUN, 2022) ou transplante de microbiota fecal (CITRARO et al., 2021; MU et al., 2022b; OLSON et al., 2018)

As mudanças mais aparentes na composição taxonômica da microbiota foram o aumento, à nível de filo, de *Firmicutes* após dieta cetogênica (MU et al., 2022) e dieta rica em triptofano (YUE et al., 2021), aumento de *Verrucomicrobia*, aqui representado por *Akkermansia muciniphila*, após dieta cetogênica (OLSON et al., 2018) e administração de prednisolona (DE LIMA et al., 2022), aumento em *Actinobacteria* após dieta rica em triptofano (YUE et al., 2021) e diazepam (DE LIMA et al., 2022), e a diminuição de *Bacteroidetes* após suplementação com probióticos (EOR et al., 2021a, 2021b). Além de *Verrucomicrobia* e *Actinobacteria*, grupos tratados com prednisolona ou diazepam evidenciaram aumento no filo *Candidatus_saccharibacteria*, o antigo grupo TM7 (DE LIMA et al., 2022).

Limiar convulsivo e número de crises

A dieta cetogênica isolada foi capaz de aumentar o tempo de latência das crises em camundongos ICR após 4 semanas e a probabilidade de ocorrência destas (EOR et al., 2021b), e aumentar o limiar convulsivo no modelo de epilepsia refratária (OLSON et al., 2018). Em combinação com a dieta cetogênica, o coquetel de antibióticos de amplo espectro contendo 20 mg/kg de vancomicina, 50 mg/kg de neomicina, 50 mg/kg de ampicilina e 10 mg/kg de metronidazol (AVNM) foi capaz de diminuir a frequência de espasmos no modelo de espasmos infantis (EI) (MU et al., 2022). Nas combinações de dieta cetogênica (KD) + probióticos ou simbióticos os resultados também são animadores. Isoladamente, o probiótico *Lactobacillus fermentum* MSK 408 foi capaz de diminuir a mortalidade, duração, frequência e susceptibilidade à crise epiléptica. Quando administrado juntamente com KD o efeito na mortalidade se manteve e melhorou nos parâmetros de duração e frequência da crise, devido ao aumento no metabolismo de GABA (EOR et al., 2021a). Na continuação do estudo anterior, verificou-se que a diminuição das crises induzidas por pentilenotetrazol (PTZ) poderia ser uma consequência da diminuição do dano celular no hipocampo dos animais

tratados com KD (EOR et al., 2021a). Esta região, responsável pela memória espacial e de curto prazo, é frequentemente utilizada para identificar dano neuronal.

Quanto à administração de suplementos probióticos o Pedilact, composto de *Lactobacillus rhamnosus , Lactobacillus reuteri e Bifidobacterium infantis,* diminuiu muito a gravidade das crises induzidas por PTZ (BAGHERI et al., 2019), mas não foi tão eficaz quanto o valproato. Entretanto, a gravidade das crises nestes grupos não ultrapassou o grau 3 na escala de Racine, utilizada para classificar a severidade das crises em modelos animais. Além disso, no mesmo estudo, foi avaliado o desempenho cognitivo dos animais através das habilidades de memória e aprendizado espacial. Os grupos que receberam probiótico levaram menos tempo para localizar uma plataforma escondida, mas tiveram desempenho inferior no teste do labirinto aquático de Morris, quando comparados ao grupo controle ou valproato (VPA) (BAGHERI et al., 2019). Já o VSL#3, uma mistura probiótica composta de quatro cepas de *Lactobacillus*, três cepas de *Bifidobacterium* e uma cepa de *Streptococcus* (DOUILLARD et al., 2018), aumentou a latência e diminuiu a frequência de picos na eletrocorticografia (ECoG) em crises induzidas por penicilina (KIZILASLAN; SUMBUL; AYGUN, 2022).

Na morte súbita induzida por epilepsia, o fator determinante é a parada respiratória, pois os músculos respiratórios também são afetados durante a crise. Para este modelo, a dieta rica em triptofano (HTD) conseguiu diminuir significativamente a incidência de parada respiratória em ratos DBA/1 em relação ao grupo dieta normal (YUE et al., 2021), evidenciando a participação do metabolismo do triptofano em processos antiepilépticos.

O transplante de microbiota fecal se mostrou eficaz em possibilitar a colonização de espécies relacionadas à KD (CITRARO et al., 2021; OLSON et al., 2018). Camundongos livres de patógenos (SPF) transplantados com uma microbiota dieta controle (CD) e alimentados com KD demonstraram limiar convulsivo aumentado em comparação com camundongos transplantados e alimentados com dieta normal, pondo em foco a proteção conferida pela dieta (OLSON et al., 2018). No eletroencefalograma (EEG) de ratos WAG/Rij, modelo genético de epilepsia de ausência, que foi realizado previamente a qualquer tipo de tratamento foram mensurados o número e a duração dos picos de descarga (SWDs), não houve nenhuma diferença significativa nestes parâmetros após tratamento com o coquetel de antibióticos AVNM em comparação com o grupo controle. Apenas posteriormente ao FMT foram observadas alterações significativas, onde ratos WAG que receberam transplante de

Wistar e ratos WAG que receberam microbiota de WAG tratados com etossuximida demonstraram diminuição das crises de ausência (CITRARO et al., 2021).

Análise bioquímica

Para avaliar a resposta à dieta cetogênica, alguns dos estudos analisaram a concentração sérica de glicose e de β-hidroxibutirato (EOR et al., 2021b, 2021a; OLSON et al., 2018) comprovando que a medida que a glicose sérica diminui, a cetose aumenta. A presença de GABA no tecido cerebral ajuda a controlar as crises por se tratar de um neurotransmissor inibitório. Desta forma, os níveis de GABA hipocampal e periféricos foram medidos, o grupo KD colonizados com *Akkermansia muciniphila* e *Parabacteroides merdae* e *P. diastantesonis* (KD + AkkPb) revelou uma razão GABA/glutamato hipocampal muito maior do que nos grupos CD ou KD + AVNM (OLSON et al., 2018), indicando que o transplante de microbiota fecal não suprimiu o efeito da dieta cetogênica. O tratamento probiótico com a mistura de *Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus reuteri* e *Bifidobacterium infantis* também aumentou GABA, mas apenas quando administrada durante o kindling (BAGHERI et al., 2019).

Uma análise de citocinas pró-inflamatórias foi empregada em um dos estudos, onde a administração de penicilina aumentou a concentração de interleucina 6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e óxido nítrico (NO) no tecido cerebral (KIZILASLAN; SUMBUL; AYGUN, 2022). A administração de VSL#3, além de reduzir a frequência de picos no ECoG, limitou o aumento dessas citocinas, trazendo os níveis destas para algo muito semelhante ao controle.

Efeito protetor da modulação da microbiota

Para enriquecer os resultados já obtidos no estudo de Ju Young Eor (2021a), onde foi observado a diminuição da glicose sérica, cetose, diminuição de *Bacteroidetes*, diminuição da duração e aumento do tempo latência , foram analisadas as proteínas de junção estreita ZO-1, claudina e ocludina, os receptores de GABA e o transportador de glutamato GLT-1 (EOR et

al., 2021a). O probiótico *L. fermentum* MSK 408 aumentou a expressão das três proteínas de junção e aumentou seletivamente a expressão da subunidade do receptor de GABA, portanto, tanto KD quanto MSK 408 exibem efeito protetor através da modulação da função da BHE. O triptofano (TRP) é um aminoácido essencial, ele e seus metabólitos participam de vários processos no sistema nervoso central, como a produção de melatonina e principalmente a síntese de 5-HT que é feita majoritariamente no intestino (GAO et al., 2020). Os níveis de triptofano em pacientes com espasmos infantis é menor do que em pacientes neurotípicos, criando a hipótese de que um distúrbio no metabolismo do triptofano estaria envolvido na patogênese de EI. No metabolismo do triptofano, ele pode ser convertido a 5-HT, ou majoritariamente, a quinurenina (KYN) pela enzima indolamina 2,3-dioxigenase 1 (IDO1). Os produtos da via da KYN são o ácido quinolínico (QA) que ativa a neurotransmissão e o ácido quinurênico (KA) que a inibe (MUNEER, 2020). Os animais não saudáveis e alimentados com dieta normal tinham um número maior de crises e a quantidade desta enzima mais elevada, portanto, associou-se à quantidade de crises. Para confirmar esta hipótese, foram administrados nos animais o 1-metiltriptofano (1-MT) antibiótico inibidor específico da IDO1 e a minociclina, um inibidor alternativo da formação de quinurenina através do TRP. Quando os animais estavam sob dieta normal acrescida de 1-MT não houve diferença significativa na frequência de crises em relação à dieta normal, mas quando administrado juntamente com a dieta cetogênica, o número de crises foi ainda menor do que quando foi aplicada apenas a dieta isolada, demonstrando sinergismo. De modo geral, tanto o 1-MT quanto a minociclina mudaram o metabolismo do TRP para a produção de KA no hipocampo (MU et al., 2022), que pode estar envolvido nos efeitos anticonvulsivantes.

Resultado em humanos

Ainda não há um grande número de ensaios clínicos que utilizem outras abordagens que não sejam a dieta cetogênica, mas, alguns artigos relatam o efeito benéfico obtido de maneira não-intencional em um caso de doença de Crohn (HE et al., 2017a), o cessamento de crises epilépticas durante uso de antibióticos (BRAAKMAN; VAN INGEN, 2018), uma análise retrospectiva dos efeitos dos probioticos/prebióticos utilizados em crianças com epilepsia (SU; LI; SUN, 2022) e o efeito anticonvulsivante conferido por altos níveis de *Bifidobacterium* em crianças (DAHLIN et al., 2022).

O primeiro é o relato de caso de uma menina de 22 anos que possui doença de Crohn e que começou a ter crises epilépticas generalizadas com perda de consciência e diarreia crônica com 6 anos de idade (ZHI HE *et al.,* 2017). Entre os 6 e os 13 anos, a menina sofria com cerca de 120 crises por ano, quando começou a utilizar valproato que acarretou uma diminuição expressiva do número de crises. Após receber FMT para tratar as estenoses provenientes da doença de Crohn, suas crises, que ainda ocorriam apesar do uso de valproato, cessaram. Seis pacientes, entre 10 e 16 anos, com diagnóstico de epilepsia de diferentes etiologias quando medicados com antibióticos tiveram o número de crises substancialmente reduzidos, ou cessados. Todos os pacientes faziam uso de antiepilépticos e da dieta cetogênica, destes, cinco tiveram as crises cessadas durante o tratamento, e um menino de 10 anos com um tipo de epilepsia genética de ausência teve suas crises diminuídas em 90% (BRAAKMAN; VAN INGEN, 2018). Já para avaliar o efeito curativo de prebióticos/probióticos em crianças diagnosticadas com epilepsia refratária com menos de 9 anos de idade foi realizado o acompanhamento por exames de rotina incluindo EEG, sangue, urina e ECG. O aumento gradual da relação cetogênica e o tratamento farmacológico não foram interrompidos (SU; LI; SUN, 2022). A eficácia clínica da combinação de KD e probiótico *Bacillus subtilis* foi maior do que apenas em KD, houve melhoras no EEG caracterizadas por diminuição das descargas epileptogênicas e após um ano de tratamento foi medido o quociente de inteligência verbal (VIQ) e o quociente de inteligência de desempenho (PIQ) que demonstraram o desenvolvimento cognitivo aumentado em relação ao início do tratamento. Os níveis de 5-HT também aumentaram no grupo combinado em relação ao grupo KD (SU; LI; SUN, 2022). O efeito anticonvulsivante de altos níveis de *Bifidobacterium* foram vistos quando crianças foram tratadas com dieta cetogênica sem interrupção do tratamento com anticonvulsivantes. KD diminuiu a inflamação sistêmica ao diminuir TNF, interleucina 12B (IL-12B) e proteína quimiocina . Apesar da abundância de *Bifidobacterium* ter aumentado nestas crianças, não se sabe se a alteração das citocinas foi causada diretamente pelas bactérias ou se foi via sinalização pelo nervo vago, visto que o efeito ansiolítico de *Bifidobacterium* envolve vias vagais (BERCIK et al., 2011).

DISCUSSÃO

A disbiose em casos de epilepsia é exemplificada quando animais lesionados possuem níveis mais baixos de *Firmicutes* em relação a animais saudáveis. O aumento da abundância relativa desse filo em resposta à dieta cetogênica (MU et al., 2022) e dieta rica em triptofano (YUE et al., 2021) expõe que, na verdade, esta seria uma recuperação da microbiota saudável. É importante ressaltar que o aumento de determinado filo não pode ser visto isoladamente como algo benéfico. Por exemplo, *Ruminococcus* (do filo *Firmicutes*) tem sido associado ao aumento dos níveis de glutamato (SUN, et al., 2016) e diminuição do nível de serotonina (BEDARF, JR, et al., 2017), facilitadores da epileptogênese (BARKER-HALISKI, et al., 2015).

Apesar da diminuição da diversidade alfa em Swiss Webster após KD (OLSON et al., 2018), a abundância relativa de A. *muciniphila* e *Parabacteroides* aumentou neste mesmo tratamento, e no tratamento com prednisolona (DE LIMA et al., 2022). A exposição à antibióticos, induz a depleção da microbiota intestinal, de maneira geral, e a associação destas duas espécies conferiu proteção contra crises através do aumento da razão GABA/glutamato no hipocampo (DE LIMA et al., 2022), sugerindo que altas doses de antibióticos podem suprimir o efeito da dieta cetogênica aumentando a susceptibilidade e a incidência de crises. O aumento de *Actinobacteria* após HTD (YUE et al., 2021) e diazepam (DE LIMA et al., 2022) também pode estar relacionado ao efeito protetor, visto que, algumas espécies de *Bifidobacterium* estão relacionadas ao aumento de GABA (YUNES et al., 2016), e algumas espécies que foram utilizadas em misturas probióticas (BAGHERI et al., 2019; KIZILASLAN et al., 2022) diminuíram a gravidade das crises. A diminuição de Bacteroidetes observada após suplementação com probióticos (EOR et al., 2021a; EOR et al., 2021b) não condiz com o esperado, pois bactérias deste filo já haviam demonstrado reduzir crises epilépticas (XIE et al., 2017). Entretanto, KD + *L. fermentum* MSK 408 aumentaram significativamente o gênero *Akkermansia* (EOR et al., 2021b), podendo levantar a hipótese de ser um sistema de compensação. O aumento de *Candidatus_saccharibacteria* juntamente com *Actinobacteria* após prednisolona (DE LIMA et al., 2022) tem característica benéfica, visto que a associação com TM7 possibilita a formação de biofilme enquanto TM7 poderia modular a resposta imune através da supressão de TNF-α em macrófagos (HE X et al., 2015).

Para relacionar as alterações microbiológicas com os efeitos visíveis no controle da epilepsia é necessário a avaliação bioquímica para verificar qual a influência destas abordagens terapêuticas no tecido sanguíneo e no tecido cerebral. A análise dos níveis de

glicose, BHB e GABA (OLSON et al., 2018; EOR et al., 2021a; BAGHERI et al., 2019; EOR et al., 2021b), IL-6, TNF-α e NO (KIZILASLAN et al., 2022), proteínas de junção e transportadores de GABA (KIZILASLAN et al., 2022) e dano neuronal (EOR et al., 2021b) explicam exatamente o que mudou no metabolismo após cada uma das intervenções. Em 2007, foi dito que a dieta cetogênica era eficaz em induzir cetose, o que poderia ser necessário, mas não suficiente para o controle de crises (BOUGH, KJ & RHOV JM, 2007). Pode-se constatar isto ao observar os resultados após a dieta cetogênica em ratos livres de germes, onde, apesar do estímulo de 6 Hz não ser capaz de induzir crises epilépticas em 50% dos animais, o nível de BHB sérico estava semelhante aos ratos SPF em dieta normal (OLSON et al., 2018).

Em humanos, o uso de antibiótico pode parecer promissor, pois segundo os médicos dos pacientes não houve nenhuma outra intervenção que poderia explicar os resultados vistos nas crianças e nos adolescentes (BRAAKMAN et al., 2018). Uma das hipóteses é de que o uso de macrolídeos (conhecidos inibidores do citocromo P450) poderiam permitir que a concentração dos anticonvulsivantes se mantivesse alta o suficiente para ser mais eficiente. Entretanto, os beta-lactâmicos como as penicilinas já são conhecidos como indutores de crises epilépticas (IMANI S, et al., 2017) inclusive um dos artigos citados anteriormente utilizou o modelo de crise induzida por penicilina (KIZILASLAN et al., 2022).

Os resultados obtidos por Dahlin sugerem que uma maior abundância de *Bifidobacterium* confere resistência às crises em crianças (DAHLIN et al., 2022) algo semelhante foi observado após tratamento com as misturas probióticas Pedilact (BAGHERI et al., 2019) que contém *Bifidobacterium infantis* entre seus ingredientes e VSL#3 (KIZILASLAN et al., 2022) que além de *B. infantis* também é composto de *B. breve* e *B. longum*. Aparentemente, a suplementação com probióticos ganha destaque por já ter sido mais bem estudada em humanos. Além do número de crises ser reduzido foi feito acompanhamento das crianças por um longo tempo e observou-se melhora no desenvolvimento cognitivo (SU et al., 2022).

Como a abordagem mais invasiva, o transplante de microbiota fecal demonstrou um efeito interessante. Aplicado para tratar doença de Crohn utilizando amostra fecal de uma criança (HE Z et al., 2017), este fato reforça que o momento mais propício para uma intervenção seria na infância, visto que a microbiota jovem transplantada em uma pessoa adulta induziu melhora na manifestação clínica da epilepsia.

CONCLUSÃO

O principal achado desta revisão é que as intervenções exógenas funcionam para recolonizar a microbiota intestinal e que esta recolonização não aparece de forma isolada em casos de epilepsia. Juntamente com a diversidade, riqueza, ou composição taxonômica da microbiota intestinal, parâmetros bioquímicos e imunológicos também são alterados para o controle das crises epilépticas.

A dieta cetogênica é capaz de aumentar microrganismos relacionados à uma microbiota saudável, induzir cetose e aumentar a razão GABA/glutamato no hipocampo. Alguns tipos de antibióticos demonstram diminuir crises em animais e em humanos, mas exatamente por serem antibióticos deve-se ter cautela para não se desenvolver um segundo problema, a resistência bacteriana. A suplementação com probióticos é promissora, há mais estudos em humanos considerando esta abordagem terapêutica e foi demonstrada melhora do desenvolvimento verbal e de desempenho em crianças com epilepsia. O transplante de microbiota fecal também é promissor, a diminuição e a duração dos picos de descarga na eletrocorticografia foram vistos após ratos de um modelo genético de epilepsia de ausência receberem microbiota de ratos saudáveis ou de ratos com epilepsia tratados com etossuximida.

Os resultados obtidos reforçam a comunicação bidirecional do intestino e do cérebro. A ausência de efeitos colaterais importantes, como ganho e perda de peso significativa ou algum tipo de déficit cognitivo, estimula a pesquisa nesta área e permite que estas abordagens sejam adaptadas para serem aplicadas em pacientes com epilepsia.

REFERÊNCIAS

BAGHERI, S. et al. Effect of probiotic supplementation on seizure activity and cognitive performance in PTZ-induced chemical kindling. **Epilepsy & Behavior**, v. 95, p. 43–50, 2019.

BARICHELLA, M. et al. Unraveling gut microbiota in Parkinson's disease and atypical parkinsonism. **Movement Disorders**, v. 34, n. 3, p. 396–405, 21 mar. 2019.

BARKER-HALISKI M, White HS. Glutamatergic Mechanisms Associated with Seizures and Epilepsy. Cold Spring Harb Perspect Med. 2015 Jun 22;5(8):a022863. doi: 10.1101/cshperspect.a022863.

BEDARF, JR , Hildebrand, F. , Coelho, LP , Sunagawa, S. , Bahram, M. , Goeser, F. , Bork, P. e Wullner, U. (2017) Functional implications of microbial and viral gut metagenome changes in early stage L-DOPA-naïve Parkinson's disease patients. Genome Med. 9 (1), 39 , DOI: 10.1186/s13073-017-0428-y

BERCIK, P. et al. The anxiolytic effect of Bifidobacterium longum NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 23, n. 12, p. 1132–1139, dez. 2011.

BOUGH, K.J, RHO, J.M Anticonvulsant mechanisms of the ketogenic diet. Epilepsia, 48 (2007), pp. 43-58

BRAAKMAN, H. M. H.; VAN INGEN, J. Can epilepsy be treated by antibiotics? **Journal of Neurology**, v. 265, n. 8, p. 1934–1936, 21 ago. 2018.

CHEUNG, S. G. et al. Systematic Review of Gut Microbiota and Major Depression. **Frontiers in Psychiatry**, v. 10, 11 fev. 2019.

CITRARO, R. et al. First evidence of altered microbiota and intestinal damage and their link to absence epilepsy in a genetic animal model, the WAG/Rij rat. **Epilepsia**, v. 62, n. 2, p. 529–541, 1 fev. 2021.

DAHLIN, M. et al. Higher levels of Bifidobacteria and tumor necrosis factor in children with drug-resistant epilepsy are associated with anti-seizure response to the ketogenic diet. **eBioMedicine**, v. 80, p. 104061, jun. 2022.

DE LIMA, A. M. D. L. et al. Gut microbiota modulation by prednisolone in a rat kindling model of pentylenetetrazol (PTZ)-induced seizure. **Microbial Pathogenesis**, v. 163, p. 105376, 1 fev. 2022.

DOUILLARD, F. P. et al. Comparative genomic analysis of the multispecies probiotic-marketed product VSL#3. **PLOS ONE**, v. 13, n. 2, p. e0192452, 16 fev. 2018.

EOR, J. Y. et al. Neuroprotective effect of both synbiotics and ketogenic diet in a pentylenetetrazol-induced acute seizure murine model. **Epilepsy Research**, v. 174, p. 106668, 2021a.

EOR, J. Y. et al. Gut microbiota modulation by both Lactobacillus fermentum MSK 408 and ketogenic diet in a murine model of pentylenetetrazole-induced acute seizure. **Epilepsy Research**, v. 169, p. 106506, 1 jan. 2021b.

FELDMANN, M. et al. P-glycoprotein expression and function in patients with temporal lobe epilepsy: a case-control study. **The Lancet Neurology**, v. 12, n. 8, p. 777–785, ago. 2013.

GAO, K. et al. Tryptophan Metabolism: A Link Between the Gut Microbiota and Brain. **Advances in Nutrition**, v. 11, n. 3, p. 709–723, maio 2020.

HARACH, T. et al. Reduction of Abeta amyloid pathology in APPPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 41802, 8 fev. 2017.

HE, Z. et al. Fecal microbiota transplantation cured epilepsy in a case with Crohn's disease: The first report. **World Journal of Gastroenterology**, v. 23, n. 19, p. 3565, 2017.

KIZILASLAN, N.; SUMBUL, O.; AYGUN, H. The Beneficial Effect of Probiotics Supplementation on Penicillin-Induced Focal Seizure in Rats. **Neurochemical Research**, v. 47, n. 5, p. 1395–1404, 2022.

MU, C. et al. Seizure modulation by the gut microbiota and tryptophan-kynurenine metabolism in an animal model of infantile spasms. **eBioMedicine**, v. 76, p. 103833, 1 fev. 2022.

MUNEER, A. Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism in Neuropsychiatric Disorders: Pathophysiologic and Therapeutic Considerations. **Clinical Psychopharmacology and Neuroscience**, v. 18, n. 4, p. 507–526, 30 nov. 2020.

NEAL, E. G. et al. The ketogenic diet for the treatment of childhood epilepsy: a randomised controlled trial. **The Lancet Neurology**, v. 7, n. 6, p. 500–506, jun. 2008.

OLSON, C. A. et al. The Gut Microbiota Mediates the Anti-Seizure Effects of the Ketogenic Diet. **Cell**, v. 173, n. 7, p. 1728- 1741.e13, 14 jun. 2018.

OMS. Epilepsia. **Organização Mundial da Saúde**, 9 fev. 2023.

RAO, R. S. et al. Experimentally induced various inflammatory models and seizure: Understanding the role of cytokine in rat. **European Neuropsychopharmacology**, v. 18, n. 10, p. 760–767, out. 2008.

RUTSCH, A.; KANTSJÖ, J. B.; RONCHI, F. The Gut-Brain Axis: How Microbiota and Host Inflammasome Influence Brain Physiology and Pathology. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 10 dez. 2020.

SILLANPAA, M.; SCHMIDT, D. Early seizure frequency and aetiology predict long-term medical outcome in childhood-onset epilepsy. **Brain**, v. 132, n. 4, p. 989–998, 21 maio 2008.

SINHA, S. et al. Do cytokines have any role in epilepsy? **Epilepsy Research**, v. 82, n. 2–3, p. 171–176, dez. 2008.

SU, L.; LI, S.; SUN, B. Curative Effect of Prebiotics/Probiotics-Assisted Ketogenic Diet on Children with Refractory Epilepsy. **Emergency Medicine International**, v. 2022, p. 1–6, 28 maio 2022.

UŁAMEK-KOZIOŁ, M. et al. Ketogenic Diet and Epilepsy. **Nutrients**, v. 11, n. 10, p. 2510, 18 out. 2019.

VIRTA, M.; HURME, M.; HELMINEN, M. Increased Plasma Levels of Pro‐ and Anti‐inflammatory Cytokines in Patients with Febrile Seizures. **Epilepsia**, v. 43, n. 8, p. 920–923, 28 ago. 2002.
WALKER, L.; SILLS, G. J. Inflammation and Epilepsy: The Foundations for a New Therapeutic Approach in Epilepsy? **Epilepsy Currents**, v. 12, n. 1, p. 8–12, 1 jan. 2012.

WANG, H.-X.; WANG, Y.-P. Gut Microbiota-brain Axis. **Chinese Medical Journal**, v. 129, n. 19, p. 2373–2380, 5 out. 2016.

WHELESS, J. W. History of the ketogenic diet. **Epilepsia**, v. 49, p. 3–5, nov. 2008.

XU, M. et al. Association Between Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Frontiers in Psychiatry**, v. 10, 17 jul. 2019.

YUE, Q. et al. A High-Tryptophan Diet Reduces Seizure-Induced Respiratory Arrest and Alters the Gut Microbiota in DBA/1 Mice. **Frontiers in Neurology**, v. 12, p. 2130, 23 nov. 2021.

YUEN, A. W. C.; SANDER, J. W. Rationale for using intermittent calorie restriction as a dietary treatment for drug resistant epilepsy. **Epilepsy & Behavior**, v. 33, p. 110–114, abr. 2014.

3 Conclusões e Perspectivas

Neste trabalho foram relatadas as mudanças induzidas pela modulação da microbiota em casos de epilepsia. As mais diferentes abordagens possuem efeito tanto quando associadas à dieta cetogênica como quando aplicadas isoladamente, embora a substituição do tratamento farmacológico não seja um dos objetivos.

Ainda há uma escassez de resultados em humanos, entretanto, este ainda é um campo novo a ser explorado. São necessários estudos pré-clínicos mais abrangentes e que considerem além dos níveis de glicose, BHB, Glutamato e GABA. Uma análise sorológica mais robusta e uma quantificação dos níveis de citocinas após todos esses tratamentos poderiam auxiliar a guiar os próximos passos da pesquisa da modulação da microbiota.

REFERÊNCIAS

ARONICA, E. et al. Astrocyte immune responses in epilepsy. Glia, v. 60, n. 8, p. 1258–1268, 13 ago. 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1002/glia.22349.

BAGHERI, S. et al. Effect of probiotic supplementation on seizure activity and cognitive performance in PTZ-induced chemical kindling. Epilepsy & Behavior, v. 95, p. 43–50, 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.03.031.

BARICHELLA, M. et al. Unraveling gut microbiota in Parkinson's disease and atypical parkinsonism. Movement Disorders, v. 34, n. 3, p. 396–405, 21 mar. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1002/mds.27607.

BERCIK, P. et al. The anxiolytic effect of *Bifidobacterium longum* NCC3001 involves vagal pathways for gut-brain communication. Neurogastroenterology & Motility, v. 23, n. 12, p. 1132–1139, dez. 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1365-2982.2011.01796.x

BERG AT, et al. Complete remission of childhood-onset epilepsy: stability and prediction over two decades. Brain 2014;137(Pt 12):3213–22. Disponível em: https://doi.org/10.1093/brain/awu266

BRAAKMAN, H. M. H.; VAN INGEN, J. Can epilepsy be treated by antibiotics? Journal of Neurology, v. 265, n. 8, p. 1934–1936, 21 ago. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00415-018-9003-3

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Avaliação e conduta da epilepsia na atenção básica e na urgência e emergência [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática; tradução de Li Li Min. – Brasília : Ministério da Saúde, 2018.

BRUNTON, L. L. Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 12. ed. Rio de Janeiro: Mc Grawn Hill, 2012.

CHEUNG, S. G. et al. Systematic Review of Gut Microbiota and Major Depression. Frontiers in Psychiatry, v. 10, 11 fev. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fpsyt.2019.00034

CITRARO, R. et al. First evidence of altered microbiota and intestinal damage and their link to absence epilepsy in a genetic animal model, the WAG/Rij rat. Epilepsia, v. 62, n. 2, p. 529–541, 1 fev. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1111/epi.16816

COCKERELL, O. C. et al. Remission of epilepsy: results from the National General Practice Study of Epilepsy. The Lancet, v. 346, n. 8968, p. 140–144, jul. 1995. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S0140-6736(95)92192-8

CZUCZWAR SJ. Epilepsy. [s.l.] Exon Publications, 2022.

DAHLIN, M. et al. Higher levels of Bifidobacteria and tumor necrosis factor in children with drug-resistant epilepsy are associated with anti-seizure response to the ketogenic diet. eBioMedicine, v. 80, p. 104061, jun. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.104061

DE LIMA, A. M. D. L. et al. Gut microbiota modulation by prednisolone in a rat kindling model of pentylenetetrazol (PTZ)-induced seizure. Microbial Pathogenesis, v. 163, p. 105376, 1 fev. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105376

DEVINSKY, O., Vezzani, A., O'Brien, T. et al. Epilepsy. Nat Rev Dis Primers 4, 18024 (2018). Disponível em: https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.24

DOUILLARD, F. P. et al. Comparative genomic analysis of the multispecies probiotic-marketed product VSL#3. PLOS ONE, v. 13, n. 2, p. e0192452, 16 fev. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192452

EOR, J. Y. et al. Neuroprotective effect of both synbiotics and ketogenic diet in a pentylenetetrazol-induced acute seizure murine model. Epilepsy Research, v. 174, p. 106668, 2021a. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2021.106668

EOR, J. Y. et al. Gut microbiota modulation by both Lactobacillus fermentum MSK 408 and ketogenic diet in a murine model of pentylenetetrazole-induced acute seizure. Epilepsy Research, v. 169, p. 106506, 1 jan. 2021b. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2020.106506

FELDMANN, M. et al. P-glycoprotein expression and function in patients with temporal lobe epilepsy: a case-control study. The Lancet Neurology, v. 12, n. 8, p. 777–785, ago. 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70105-9

FISHER, R. S. et al. Epileptic Seizures and Epilepsy: Definitions Proposed by the International League Against Epilepsy (ILAE) and the International Bureau for Epilepsy (IBE). Epilepsia, v. 46, n. 4, p. 470–472, abr. 2005. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2005.66104.x

FISHER, R. S. et al. Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. Epilepsia, v. 58, n. 4, p. 522–530, 8 abr. 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1111/epi.13670

FUSCO, F. et al. The microbiota‐gut‐brain axis and epilepsy from a multidisciplinary perspective: Clinical evidence and technological solutions for improvement of in vitro preclinical models. Bioengineering & Translational Medicine, v. 7, n. 2, 25 maio 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1002/btm2.10231

GAO, K. et al. Tryptophan Metabolism: A Link Between the Gut Microbiota and Brain. Advances in Nutrition, v. 11, n. 3, p. 709–723, maio 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1093/advances/nmz132

GEERTS, A. et al. Course and outcome of childhood epilepsy: A 15-year follow-up of the Dutch Study of Epilepsy in Childhood. Epilepsia, v. 51, n. 7, p. 1189–1197, 14 jun. 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2010.02508.x

HARACH, T. et al. Reduction of Abeta amyloid pathology in APPPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota. Scientific Reports, v. 7, n. 1, p. 41802, 8 fev. 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1038/srep41802

HE, Z. et al. Fecal microbiota transplantation cured epilepsy in a case with Crohn's disease: The first report. World Journal of Gastroenterology, v. 23, n. 19, p. 3565, 2017. Disponível em: https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i19.3565

HOLTMAN, L. et al. Blood plasma inflammation markers during epileptogenesis in post-status epilepticus rat model for temporal lobe epilepsy. Epilepsia, v. 54, n. 4, p. 589–595, abr. 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1111/epi.12105

HUBNER, C. A. Ion channel diseases. Human Molecular Genetics, v. 11, n. 20, p. 2435–2445, 1 out. 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1093/hmg/11.20.2435

KIZILASLAN, N.; SUMBUL, O.; AYGUN, H. The Beneficial Effect of Probiotics Supplementation on Penicillin-Induced Focal Seizure in Rats. Neurochemical Research, v. 47, n. 5, p. 1395–1404, 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s11064-022-03496-3

KWAN, P.; BRODIE, M. J. Early Identification of Refractory Epilepsy. New England Journal of Medicine, v. 342, n. 5, p. 314–319, 3 fev. 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1056/NEJM200002033420503

LOGSDON, A. F. et al. Gut reactions: How the blood–brain barrier connects the microbiome and the brain. Experimental Biology and Medicine, v. 243, n. 2, p. 159–165, 23 jan. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1177/1535370217743766

MU, C. et al. Seizure modulation by the gut microbiota and tryptophan-kynurenine metabolism in an animal model of infantile spasms. eBioMedicine, v. 76, p. 103833, 1 fev. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2022.103833

MUNEER, A. Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism in Neuropsychiatric Disorders: Pathophysiologic and Therapeutic Considerations. Clinical Psychopharmacology and Neuroscience, v. 18, n. 4, p. 507–526, 30 nov. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.9758/cpn.2020.18.4.507

NEAL, E. G. et al. The ketogenic diet for the treatment of childhood epilepsy: a randomised controlled trial. The Lancet Neurology, v. 7, n. 6, p. 500–506, jun. 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1016/S1474-4422(08)70092-9

OLSON, C. A. et al. The Gut Microbiota Mediates the Anti-Seizure Effects of the Ketogenic Diet. Cell, v. 173, n. 7, p. 1728-1741.e13, 14 jun. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.04.027

OMS. Epilepsia. Organização Mundial da Saúde, 9 fev. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s12883-020-01944-w

PARKER, A.; FONSECA, S.; CARDING, S. R. Gut microbes and metabolites as modulators of blood-brain barrier integrity and brain health. Gut Microbes, v. 11, n. 2, p. 135–157, 3 mar. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1649626

PAVONE, P. et al. West syndrome: a comprehensive review. Neurological Sciences, v. 41, n. 12, p. 3547–3562, 22 dez. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s10072-020-04677-3

PETRA, A. I. et al. Gut-Microbiota-Brain Axis and Its Effect on Neuropsychiatric Disorders With Suspected Immune Dysregulation. Clinical Therapeutics, v. 37, n. 5, p. 984–995, maio 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2015.03.002

Rang & Dale: Farmacologia / H. P. Rang [et. al.]; [Tradução Gea Consultoria Editorial]. 8. ed. - Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1016/C2014-0-01697-4

RAO, R. S. et al. Experimentally induced various inflammatory models and seizure: Understanding the role of cytokine in rat. European Neuropsychopharmacology, v. 18, n. 10, p. 760–767, out. 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2008.06.006

ROGAWSKI, M. A.; LÖSCHER, W.; RHO, J. M. Mechanisms of Action of Antiseizure Drugs and the Ketogenic Diet. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine, v. 6, n. 5, p. a022780, maio 2016. Disponível em: https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022780

Parte superior do formulário

RUTSCH, A.; KANTSJÖ, J. B.; RONCHI, F. The Gut-Brain Axis: How Microbiota and Host Inflammasome Influence Brain Physiology and Pathology. Frontiers in Immunology, v. 11, 10 dez. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.614216.

SILLANPAA, M.; SCHMIDT, D. Early seizure frequency and aetiology predict long-term medical outcome in childhood-onset epilepsy. Brain, v. 132, n. 4, p. 989–998, 21 May 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1093/brain/awn037.

SINHA, S. et al. Do cytokines have any role in epilepsy? Epilepsy Research, v. 82, n. 2–3, p. 171–176, dez. 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2008.09.001.

SU, L.; LI, S.; SUN, B. Curative Effect of Prebiotics/Probiotics-Assisted Ketogenic Diet on Children with Refractory Epilepsy. Emergency Medicine International, v. 2022, p. 1–6, 28 maio 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1155/2022/8765568.

UŁAMEK-KOZIOŁ, M. et al. Ketogenic Diet and Epilepsy. Nutrients, v. 11, n. 10, p. 2510, 18 out. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.3390/nu11102510.

VIRTA, M.; HURME, M.; HELMINEN, M. Increased Plasma Levels of Pro‐ and Anti‐inflammatory Cytokines in Patients with Febrile Seizures. Epilepsia, v. 43, n. 8, p. 920–923, 28 ago. 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1046/j.1528-1157.2002.00402.x.

WALKER, L.; SILLS, G. J. Inflammation and Epilepsy: The Foundations for a New Therapeutic Approach in Epilepsy? Epilepsy Currents, v. 12, n. 1, p. 8–12, 1 jan. 2012. Disponível em: https://doi.org/10.5698/1535-7597-12.1.8.

WANG, H.-X.; WANG, Y.-P. Gut Microbiota-brain Axis. Chinese Medical Journal, v. 129, n. 19, p. 2373–2380, 5 out. 2016. Disponível em: https://doi.org/10.4103/0366-6999.190667.

WHELESS, J. W. History of the ketogenic diet. Epilepsia, v. 49, p. 3–5, nov. 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01821.x.

XU, M. et al. Association Between Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. Frontiers in Psychiatry, v. 10, p. 473, out. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fpsyt.2019.00473

YUE, Q. et al. A High-Tryptophan Diet Reduces Seizure-Induced Respiratory Arrest and Alters the Gut Microbiota in DBA/1 Mice. Frontiers in Neurology, v. 12, p. 779648, nov. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fneur.2021.779648

YUEN, A. W. C.; SANDER, J. W. Rationale for using intermittent calorie restriction as a dietary treatment for drug resistant epilepsy. Epilepsy & Behavior, v. 33, p. 110–114, abr. 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2014.02.020

ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA CLINICAL & BIOMEDICAL RESEARCH

Submissões

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso. Acesso em uma conta existente ou Registrar uma nova conta.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

- O manuscrito não foi publicado ou submetido a outra revista.
- Os metadados inseridos na submissão devem estar de acordo com as informações do documento principal e da folha de rosto.
- A folha de rosto em documento separado (.doc ou .docx) contendo os nomes de todos os autores com suas instituições de vínculo, Orcid, e-mail e a indicação do autor correspondente.
- O arquivo principal contém: Título (e *Title*, no caso do artigo não estar na íntegra em língua inglesa);.

  Resumo (e *Abstract*, no caso do artigo não estar na íntegra em língua inglesa); Artigo completo, de acordo com a seção selecionada; Referências.
- O arquivo principal está em formato .doc ou .docx
- As citações e referências do artigo devem seguir o estilo Vancouver.
- Quando utilizar figuras, estas devem ser enviadas como suplemento e referenciadas ao longo do texto do artigo. Formato JPG, preferencialmente coloridas, resolução de 300 dpi e não exceder a cinco figuras.
- Todos os autores leram a versão enviada à revista e estão de acordo com a submissão da mesma.

Diretrizes para Autores

A Clinical and Biomedical Research adota o estilo Vancouver para publicação de artigos.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Requisitos textuais gerais:

- Apresentar na folha de rosto afiliação dos autores com a indicação da instituição e a unidade de vínculo e indicação do autor correspondente, acompanhada do endereço institucional completo
- Título completo
- Título reduzido
- Trabalho apresentado em reunião científica, indicar o nome do evento, o local e a data da realização
- Citação estilo Vancouver
- Referências estilo Vancouver

Editorial

Comentário crítico e aprofundado, preparado a convite dos editores e submetido por pessoa com notório saber sobre o assunto abordado. Esta seção pode incluir o editorial de apresentação da Revista, assinado pelo Editor, além de editoriais especiais, que compreendem colaborações solicitadas sobre temas atuais ou artigos publicados na Revista.

Seção	Requisitos
Artigo de Revisão	Máx. 6000 palavras
	Resumo não estruturado
	Resumo até 200 palavras
	Máx. 80 referências
	Tabelas incluídas

	Figuras em doc. a parte individual (se tiver)

Artigos Especiais

Manuscritos exclusivamente solicitados pelos editores, sobre tema de relevância científica, a autores com reconhecida expertise na área e que não se enquadrem nos critérios de Editorial.

Seção	Requisitos
Artigos Especiais	Solicitados por editores
	Tema de relevância científica
	Autores que não se enquadram nos critérios editoriais

Artigos Originais

Artigos com resultados inéditos de pesquisa, constituindo trabalhos completos que contêm todas as informações relevantes que o leitor possa avaliar seus resultados e conclusões, bem como replicar a pesquisa. A sua estrutura formal deve apresentar os tópicos: Introdução, Métodos, Resultados e Discussão. A(s) conclusão(ões) deve(m) estar no último parágrafo da Discussão, não sendo necessária uma seção específica. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser apontadas. Para os artigos originais, deve-se apresentar um resumo estruturado (Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões) em português e em inglês (Abstract), nos casos em que o artigo não for escrito na sua totalidade na língua inglesa.

Seção	Requisitos
Artigos Originais	Estrutura textual em tópicos
	Máx. 3.000 palavras
	Implicações clínicas apontadas

	Resumo estruturado
	Resumo máx. 250 palavras
	Conclusão no último § da discussão
	Não é necessário tópico para conclusão
	Tabelas incluídas no documento principal
	Figuras em doc. sup. a parte individual (se tiver)

Revisão Sistemática

Seção	Requisitos
Revisão sistemática	Máx. 6000 palavras
	Resumo não estruturado
	Resumo até 200 palavras
	Máx. 80 referências
	Tabelas inclusas
	Figuras em doc. a parte individual (se tiver)

Comunicações Breves

Seção	Requisitos
Comunicações Breves	Estrutura textual em tópicos

	Máx. 1200 palavras
	Implicações clínicas apontadas
	Resumo estruturado
	Resumo máx. 150 palavras
	Conclusão no último § da discussão
	Não é necessário seção para conclusão
	Tabelas incluídas
	Figuras em doc. a parte individual (se tiver) - enviadas como suplemento - referenciadas ao longo do artigo - Formato JPG, preferencialmente coloridas - resolução de 300 dpi - não exceder a cinco figuras.
	Máx. 2 tabelas ou figuras
	Resumo em port. esp. ou inglês

Artigos de Revisão

Artigos que objetivam sintetizar e avaliar criticamente os conhecimentos disponíveis sobre determinado tema.

Seção	Requisitos
Artigo de Revisão	Máx. 6000 palavras
	Resumo não estruturado
	Resumo até 200 palavras
	Máx. 80 referências

	Tabelas incluídas
	Figuras em doc. a parte individual (se tiver)

Relatos de Casos

Seção	Requisitos
Relato de Caso	Máx. 1000 palavras (sem resumo/abstract e referências)
	Resumo não estruturado
	Resumo até 150 palavras
	Apresentar introdução
	Sigilo de pacientes
	Apresentar discussão
	Tabelas incluídas no manuscrito
	Tabelas após as referências
	2 Tabelas no máximo
	15 Referências
	Figuras enviadas separadas do arquivo principal (se tiver)

Relatos de Casos: Imagens em Medicina

Seção	Requisitos
Relato de Caso Imagem em Medicina	Imagens elucidativas

	Imagens não usuais
	Máx. 500 palavras
	5 Referências
	2 a 3 imagens
	Resolução mín. 300dpi

Seção de Bioestatística

Encerrada a partir do volume 33(3/4) de 2013.

Reaberta a partir do volume 38(3) de 2018

Carta ao Editor

Seção	Requisitos
Cartas para o Editor	Relevância científica
	Máx. 500 palavras
	1 tabela
	1 figura
	Máx. 5 referências
	Não ter resumo

Seção de Bioética

Encerrada a partir do volume 33(3/4) de 2013.

Reaberta a partir do volume 38(3) de 2018

Declaração de Direito Autoral

Autores que publicam nesta revista concordam com os seguintes termos:

- Autores mantêm os direitos autorais e concedem à revista o direito de primeira publicação, com o trabalho simultaneamente licenciado sob a Licença Creative Commons Attribution que permite o compartilhamento do trabalho com reconhecimento da autoria e publicação inicial nesta revista.
- Autores têm autorização para assumir contratos adicionais separadamente, para distribuição não-exclusiva da versão do trabalho publicada nesta revista (ex.: publicar em repositório institucional ou como capítulo de livro), com reconhecimento de autoria e publicação inicial nesta revista.
- Autores têm permissão e são estimulados a publicar e distribuir seu trabalho online (ex.: em repositórios institucionais ou na sua página pessoal) a qualquer ponto antes ou durante o processo editorial, já que isso pode gerar alterações produtivas, bem como aumentar o impacto e a citação do trabalho publicado (Veja O Efeito do Acesso Livre).

- **Política de Privacidade**
- Os nomes e endereços de e-mail neste site serão usados exclusivamente para os propósitos da revista, não estando disponíveis para outros fins.