

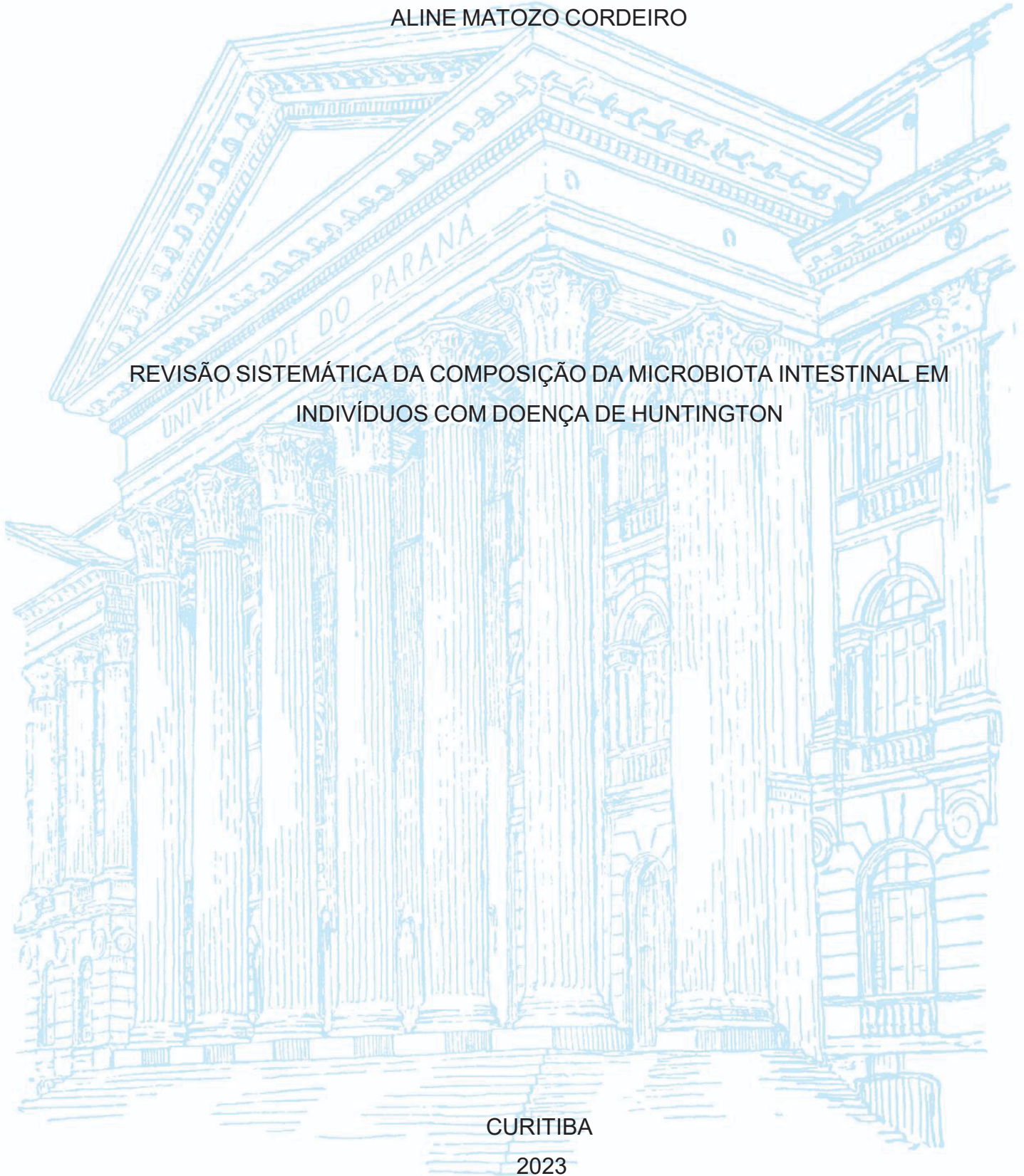
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ALINE MATOZO CORDEIRO

REVISÃO SISTEMÁTICA DA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM  
INDIVÍDUOS COM DOENÇA DE HUNTINGTON

CURITIBA

2023



ALINE MATOZO CORDEIRO

REVISÃO SISTEMÁTICA DA COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM  
INDIVÍDUOS COM DOENÇA DE HUNTINGTON

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Helena Hiemisch Lobo  
Borba

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Fernandez-  
Llimos

CURITIBA

2023

Cordeiro, Aline Matozo

Revisão sistemática da composição da microbiota intestinal em indivíduos com Doença de Huntington [recurso eletrônico] / Aline Matozo Cordeiro – Curitiba, 2023.  
1 recurso online : PDF

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2023.

Orientador: Profa. Dra. Helena Hiemisch Lobo Borba

Coorientador: Prof. Dr. Fernando Fernandez-Llimos

1. Doença de Huntington. 2. Disbiose. 3. Microbiota gastrointestinal.  
4. Revisão sistemática. I. Borba, Helena Hiemisch Lobo. II. Fernandez-Llimos, Fernando. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 616.851



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS - 40001018042P8

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **ALINE MATOZO CORDEIRO** intitulada: **Revisão sistemática da composição da microbiota intestinal em indivíduos com Doença de Huntington**, sob orientação da Profa. Dra. **HELENA HIEMISCH LOBO BORBA**, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 15 de Março de 2023.

HELENA HIEMISCH LOBO BORBA  
Presidente da Banca Examinadora

ASTRID WIENS SOUZA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

ANTÔNIO EDUARDO MATOSO MENDES

Avaliador Externo (null)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela vida que Ele me concedeu e por ter me mantido na trilha certa durante este projeto de pesquisa com saúde e forças para chegar até o final.

Agradeço os meus pais, Luciano e Valdirene por todo o esforço investido na minha educação e por sempre me incentivarem e acreditarem que eu seria capaz de superar os obstáculos que a vida me apresentou.

Ao meu irmão, Luan, pela confiança no meu progresso e pelo apoio emocional.

Agradeço ao meu noivo, Stefano, por estar ao meu lado em todos os momentos, sempre com uma palavra de incentivo.

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Helena Hiemisch Lobo Borba, pela sua dedicação e paciência durante o projeto. Seus conhecimentos fizeram grande diferença no resultado final deste trabalho.

Por último, quero agradecer também à Universidade Federal do Paraná (UFPR) pela formação profissional e humana, e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPR pelo aperfeiçoamento e pela oportunidade de realizar a pesquisa. Também agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

*“Viva como se fosse morrer amanhã. Aprenda como se fosse viver  
para sempre. ”*

*(Mahatma Gandhi)*



## RESUMO

A doença de Huntington (DH) é uma doença genética rara, autossômica dominante e neurodegenerativa progressiva, sendo caracterizada por alterações no comportamento, movimento e cognição. Estudos apontam que as características da microbiota intestinal são essenciais para a função cerebral e que disbioses intestinais foram relatadas em diversas doenças neurodegenerativas, incluindo a DH. Portanto, o objetivo deste trabalho foi sintetizar as evidências disponíveis sobre a composição e interferência da microbiota intestinal em indivíduos com DH. Foi realizada uma revisão sistemática seguindo as recomendações do Instituto Joanna Briggs e do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA), por meio de buscas nas bases de dados Scopus, Web of Science e no motor de busca Pubmed, além de busca manual nas listas de referências dos estudos incluídos. Foram incluídos estudos originais avaliando a composição da microbiota intestinal em indivíduos/animais com DH, tendo sido excluídos artigos publicados em caracteres não romanos e na forma de resumo. As buscas foram realizadas em março de 2023. A qualidade metodológica dos estudos incluídos foi avaliada por meio de ferramentas selecionadas com base no desenho do estudo (i.e., *Newcastle-Ottawa* [NOS] para estudos do tipo caso-controle, *SYRCLE's risk of bias tool* para estudos realizados em animais). As etapas de triagem, elegibilidade, extração dos dados e avaliação da qualidade metodológica foram realizadas por dois revisores, de maneira independente, seguidas de reuniões de consenso. Na ausência de consenso, um terceiro revisor foi consultado. A partir da revisão sistemática foram incluídos nove estudos, dos quais três eram do tipo caso-controle e seis foram realizados com animais. Para os estudos do tipo caso-controle, a pontuação média da NOS foi de 7 (variando de 6 a 8), o que demonstra qualidade metodológica moderada a alta. Para os estudos realizados em animais, a maioria apresentou baixo risco de viés para os domínios referentes ao alojamento aleatório, dados incompletos, reporte de desfecho seletivo e outras fontes de vieses, e risco incerto para os domínios de cegamento dos investigadores e dos avaliadores dos desfechos, bem como para o item referente à randomização na seleção dos animais para avaliação dos desfechos. Os resultados demonstram que a composição da microbiota intestinal frequentemente é alterada em pacientes com DH, pois os estudos que avaliaram a microbiota em indivíduos/animais com DH relataram algum tipo de disbiose. De acordo com esses estudos, os microorganismos mais prevalentes na microbiota intestinal dos indivíduos/animais com DH são Bacteroidetes, Firmicutes, Tenericutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Cianobactérias, Deferribacteres, Lactobacillus e Verrucomicrobia. Esses achados demonstram que o intestino consiste em potencial alvo terapêutico na DH, podendo ser explorado para retardar o início da doença, facilitar o diagnóstico e trazer opções de tratamento. Portanto, novos estudos sobre este tópico podem produzir mais evidências acerca dos potenciais benefícios da modulação da microbiota intestinal para os portadores da DH.

Palavras-chave: disbiose; Doença de Huntington; microbioma gastrointestinal; revisão sistemática.

## ABSTRACT

Huntington's disease (HD) is a rare genetic disease, autosomal dominant and progressive neurodegenerative, characterized by changes in behavior, movement and cognition. Studies indicate that the characteristics of the intestinal microbiota are essential for brain function and that intestinal dysbiosis has been reported in several neurodegenerative diseases, including HD. Therefore, the objective of this work was to synthesize the available evidence on the composition and interference of the intestinal microbiota in individuals with HD. A systematic review was carried out following the recommendations of the Joanna Briggs Institute and the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA), through searches in the Scopus, Web of Science and Pubmed search engines, in addition to manual search in reference lists of included studies. Original studies evaluating the composition of the intestinal microbiota in individuals/animals with HD were included, and articles published in non-Roman characters and in abstract form were excluded. Searches were performed in March 2023. Methodological quality of included studies was assessed using tools selected based on study design (i.e., Newcastle-Ottawa [NOS] for case-control studies, SYRCLE's risk of bias tool for animal studies). The stages of screening, eligibility, data extraction and methodological quality assessment were carried out by two reviewers, independently, followed by consensus meetings. In the absence of consensus, a third reviewer was consulted. From the systematic review, nine studies were included, of which three were case-control and six were carried out with animals. For case-control studies, the mean NOS score was 7 (ranging from 6 to 8), which demonstrates moderate to high methodological quality. For animal studies, the majority had a low risk of bias for the domains related to random placement, incomplete data, selective outcome reporting and other sources of bias, and uncertain risk for the domains of blinding investigators and outcome raters, as well as for the item referring to randomization in the selection of animals for evaluating the outcomes. The results show that the composition of the intestinal microbiota is often altered in patients with HD, as studies that evaluated the microbiota in individuals/animals with HD reported some type of dysbiosis. According to these studies, the most prevalent microorganisms in the intestinal microbiota of individuals/animals with HD are Bacteroidetes, Firmicutes, Tenericutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Cyanobacteria, Deferribacteres, Lactobacillus and Verrucomicrobia. These findings demonstrate that the intestine is a potential therapeutic target in HD and can be explored to delay the onset of the disease, facilitate diagnosis and provide treatment options. Therefore, new studies on this topic may produce more evidence about the potential benefits of modulating the intestinal microbiota for HD patients.

Keywords: dysbiosis; Huntington's disease; gastrointestinal microbiome; systematic review.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - GENÉTICA DA DOENÇA DE HUNTINGTON.....	18
Figura 2 - EIXO INTESTINO-CÉREBRO .....	27
Figura 3 - CLASSIFICAÇÃO GERAL DOS ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS.....	33
Figura 4 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE SELEÇÃO DOS ARTIGOS.....	39

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ESTUDOS INCLUIDOS .....	40
QUADRO 2 – CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS QUE AVALIARAM A FUNCIONALIDADE DOS PACIENTES COM DH.....	41
QUADRO 3 – CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS AVALIANDO A MICROBIOTA INTESTINAL EM INDIVÍDUOS/ANIMAIS COM DH.....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

- BACHD - *Bacterial artificial chromosome Huntington disease model* (Modelo de cromossomo artificial bacteriano da doença de Huntington)
- DA – Doença de Alzheimer
- DH - Doença de Huntington
- DP – Doença de Parkinson
- FDA - *Food and Drug Administration*
- GF - *Germ free* (Livre de germes)
- HTT - Gene da huntingtina
- ISRSs - Inibidores seletivos da recaptação de serotonina
- OTUs - *Operational Taxonomic Units* (Unidades Taxonômicas Operacionais)
- Pq – Poliglutamina
- RNA - Ácido ribonucleico
- rRNA - Ácido ribonucleico ribossômico
- SNE - Sistema Nervoso Entérico
- SPF - *Specific Pathogen Free* (Livre de patógenos específicos)
- TM7 - Saccharibacteria
- WT - *Wild-type* (tipo selvagem)

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b>	<b>16</b>
2.1.	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos	16
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>17</b>
3.1	DOENÇA DE HUNTINGTON	17
3.1.1	Histórico e etiologia	17
3.1.2	Dados epidemiológicos	19
3.1.3	Sintomas	19
3.1.4	Evolução da doença	21
3.1.5	Diagnóstico	23
3.1.6	Diagnóstico diferencial	24
3.1.7	Tratamento	24
3.2	EIXO INTESTINO-CÉREBRO	26
3.3	SAÚDE BASEADA EM EVIDÊNCIAS	29
3.3.1	Tipos de estudos epidemiológicos	30
3.3.2	Revisão sistemática	34
<b>4</b>	<b>MÉTODOS</b>	<b>36</b>
4.1	CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	36
4.2	SELEÇÃO DOS ESTUDOS	36
4.3	EXTRAÇÃO DE DADOS	36
4.4	AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA	37
4.5	SÍNTESE DOS DADOS	38
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>39</b>
5.2	CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS	40
5.2.1	Descrição detalhada dos estudos caso-controle	43
5.2.2	Descrição detalhada dos estudos realizados com animais	44
5.3	COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM INDIVÍDUOS COM DH	47
5.4	ANÁLISE DA QUALIDADE METODOLÓGICA	48
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>50</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>53</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>54</b>
	<b>APÊNDICE 1: ESTRATÉGIAS DE BUSCA</b>	<b>65</b>

<b>APÊNDICE 2: ESCALA DE PONTUAÇÃO DE NEWCASTLE-OTTAWA (NOS) PARA OS ESTUDOS DO TIPO CASO-CONTROLE .....</b>	<b>66</b>
<b>APÊNDICE 3: SYRCLE'S ROB TOOL PARA ESTUDOS REALIZADOS COM ANIMAIS .....</b>	<b>67</b>
<b>APÊNDICE 4: PRISMA 2020 CHECKLIST .....</b>	<b>68</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A doença de Huntington (DH) é uma doença genética rara, autossômica dominante e neurodegenerativa progressiva, sendo caracterizada por alterações no comportamento, movimento e cognição <sup>1</sup>. De acordo com estudos recentes, está estabelecido que a DH ocorre devido a uma repetição expandida de trinucleotídeos CAG do gene da proteína Huntington (HTT) no cromossomo 4. Consequentemente, é produzida uma proteína Huntington mutante (mHTT), que contém uma repetição de poliglutamina anormalmente longa <sup>2</sup>.

Os sinais e sintomas da DH podem variar muito entre cada paciente e também variam ao longo do tempo para o mesmo paciente <sup>1</sup>. Na população geral, o comprimento médio do trato CAG varia entre 16 e 20 repetições, já nos casos de DH ocorrem mais de 40 repetições. Esta variação no comprimento CAG afeta as características da doença, de modo que quanto mais longo o trato, mais cedo ocorrem os primeiros sintomas e menor a sobrevida do paciente acometido <sup>2</sup>.

Geralmente o início dos sintomas ocorre entre 35 e 55 anos de idade, e a expectativa de vida é de 15 a 20 anos a partir do início dos sintomas, devido a complicações como infecções oportunistas, pneumonia por aspiração e infarto do miocárdio <sup>2</sup>. A DH ocorre principalmente em pessoas com descendência europeia e tem uma prevalência de 10,6–13,7 por 100.000 pessoas <sup>3</sup>.

Embora ainda não exista tratamento preventivo ou curativo, têm sido desenvolvidas diversas terapias que amenizam os sintomas <sup>4</sup>. Um dos principais focos do tratamento é a coreia (movimentos involuntários abruptos e de curta duração, com repetição intensa e variável <sup>4</sup>) devido ao grande impacto que apresenta na vida do paciente, pois interfere nas atividades sociais, causa instabilidade na marcha e dificulta a segurança pessoal. Alguns dos medicamentos mais prescritos são olanzapina, risperidona, tetrabenazina, aripiprazol e quetiapina <sup>3</sup>.

Um tópico de pesquisas que está em crescimento é a relação entre o eixo intestino-cérebro, o qual é formado pelo sistema nervoso entérico, a microbiota intestinal e o cérebro <sup>5</sup>. Estes estudos apontam que as características da microbiota intestinal são essenciais para a função cerebral e que disbioses intestinais foram relatadas em diversas doenças neurodegenerativas, como esquizofrenia, autismo e doença de Parkinson (DP) <sup>6</sup>. A disbiose intestinal também foi relatada na doença de Huntington em modelos animais, mostrando que o eixo intestino-cérebro pode



influenciar certas manifestações clínicas e alterações cerebrais da doença de Huntington <sup>7</sup>. Contudo, ainda existem poucos estudos sobre a composição da microbiota intestinal e a interferência desta microbiota na DH.

O intestino se comunica com o cérebro de diversas maneiras, como por exemplo, por meio de citocinas, sinalização endócrina e comunicação pelo nervo vago, modulando assim o comportamento, a função cerebral, e, especialmente a cognição <sup>8</sup>. Portanto, sabendo-se que a microbiota intestinal é mutável, o conhecimento sobre a relação entre ela e a DH pode ser extremamente relevante para retardar o início da doença, facilitar o diagnóstico e trazer opções de tratamento, o que pode melhorar a qualidade de vida dos pacientes. À vista disso, o objetivo deste trabalho foi sintetizar as evidências disponíveis acerca da interferência da microbiota intestinal em indivíduos com Doença de Huntington.

## **2 OBJETIVO**

### 2.1. Objetivo geral

Avaliar as evidências disponíveis sobre a composição da microbiota intestinal em indivíduos com Doença de Huntington.

### 2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar as principais espécies de micro-organismos que compõem a microbiota intestinal em pacientes/animais com DH;
- Avaliar a influência da composição da microbiota intestinal sobre a evolução da DH.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

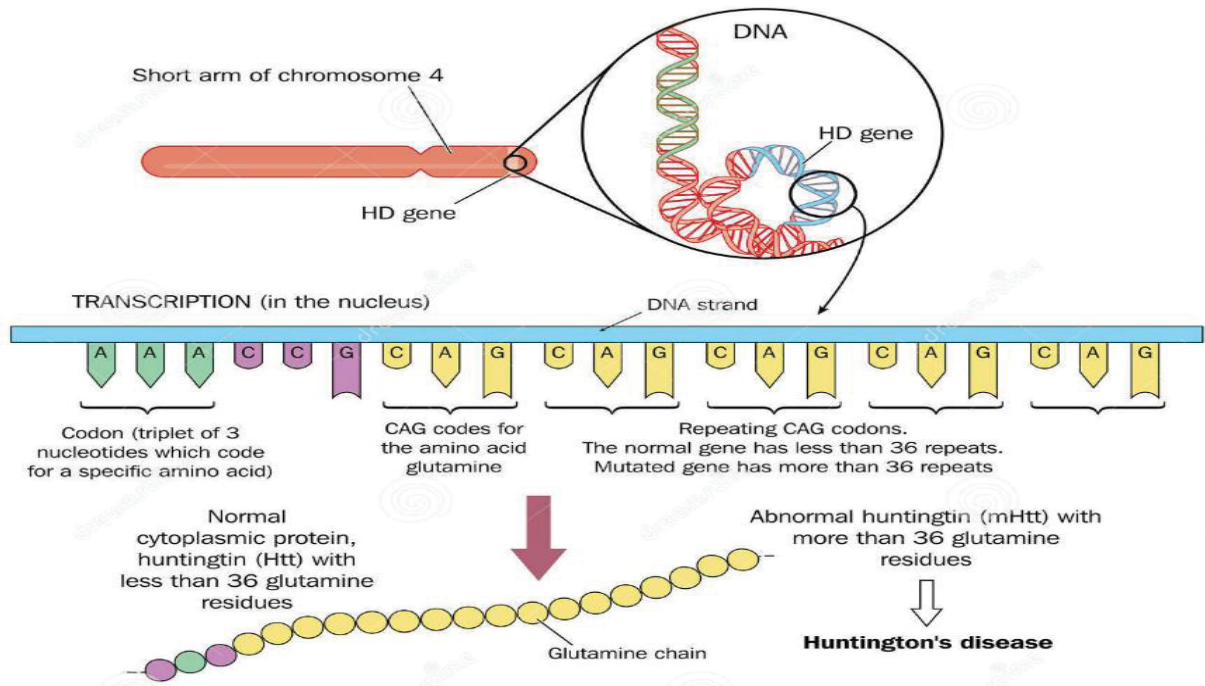
#### 3.1 DOENÇA DE HUNTINGTON

##### 3.1.1 Histórico e etiologia

A primeira descrição de um paciente com sintomas de doença de Huntington (DH) ocorreu em 1842, por Charles Oscar Waters, pesquisador de Nova York. Contudo, apenas em 1872, George Huntington apresentou uma palestra na qual descreveu a doença, que ficou conhecida como coreia de Huntington <sup>9</sup>. As primeiras observações da doença aconteceram em Long Island, Nova York, onde George Huntington, desde criança até se tornar médico, fazia rondas com seu pai e avaliava pacientes de várias gerações <sup>10</sup>.

Pode-se definir a doença de Huntington (DH) como neurodegenerativa e autossômica dominante, que tem como principais características alterações cognitivas, comportamentais e a presença de coreia, que são movimentos involuntários descoordenados. A DH possui etiologia primária de patologia corticoestriatal e é causada por repetições de trinucleotídeos de citosina, adenina e guanina (CAG) dentro do braço curto do cromossomo 4 no gene Huntingtin (HTT). Na população geral os números de repetição variam de 16 a 20, já na DH ocorrem números iguais ou superiores a 40 repetições (FIGURA 1) <sup>11</sup>.

Figura 1 - GENÉTICA DA DOENÇA DE HUNTINGTON



FONTE: reproduzido de McColgan et al. (2018)

A proteína HTT atua na função sináptica e é essencial no período pós-embrionário. Além disso, algumas pesquisas apontam que ela também possui funções anti-apoptóticas e que atua contra o mutante tóxico HTT<sup>12</sup>. Apesar de existirem muitas pesquisas sobre a forma mutante de HTT (mHTT), os dados são mais escassos em relação às características e funções do gene normal. Um dos motivos para isso é o fato de existir uma dificuldade de isolamento da proteína huntingtina devido ao seu grande tamanho e por ter uma expressão ubíqua, o que significa que está localizada em todo o corpo<sup>11</sup>.

O modo como ocorre o processo neurodegenerativo na DH ainda não foi claramente definido, contudo, uma hipótese seria a ocorrência da clivagem da proteína mutada, o que criaria fragmentos com alto teor de poliglutamina (pQ), que formariam agregados por intermédio de ligações de hidrogênio, interrompendo assim a transmissão de neurotransmissores entre os neurônios<sup>13</sup>. A glutamina é codificada pelo códon CAG, dentro do gene HTT, e não é considerada tóxica. Porém, quando ocorre a expansão da poliglutamina e a formação de agregados, surge a toxicidade, pois os agregados são os responsáveis pelos problemas secundários, como por exemplo níveis alterados de citocinas e óxido nítrico, causando respostas

inflamatórias, modificação nos níveis de radicais livres e marcadores de estresse oxidativo. Esse processo culmina em disfunção transcricional, além de apoptose, clivagem nuclear, regulação transcricional alterada, excitotoxicidade e característica neuropatológica alterada, que é a causa da morte/dano celular (KUMAR et al., 2020).

A idade de início da DH geralmente entre 35-44 anos e quanto maior for o número de repetições mais cedo se inicia a doença <sup>15</sup>. No entanto, fatores como uso excessivo de álcool, drogas e tabaco podem adiantar o início dos sintomas da DH e em mulheres, especificamente, o início motor é acelerado <sup>14</sup>. Após o início dos sintomas a expectativa de vida da DH é de 15-20 anos <sup>16</sup>.

### 3.1.2 Dados epidemiológicos

A DH é uma doença considerada rara (i.e., afecção que acomete até 65 pessoas para cada 100 mil <sup>17</sup>), pois apresenta uma prevalência que varia entre 10,6–13,7 por 100.000, acometendo principalmente pessoas de descendência europeia <sup>18</sup>. Porém, é possível que ocorra uma subestimação da real prevalência da DH em estudos anteriores, considerando que antes de 1993 o diagnóstico ocorria apenas com base nas características clínicas e no histórico familiar. Contudo, se o paciente apresentasse sintomas típicos, mas não tivesse origem familiar favorável, muitas vezes permanecia sem diagnóstico <sup>2</sup>.

### 3.1.3 Sintomas

A DH apresenta sintomas motores, cognitivos e psiquiátricos. Além disso, existem características menos conhecidas, porém prevalentes e debilitantes, tais como perda de peso não intencional, alterações no sono e disfunções no sistema nervoso autônomo <sup>9</sup>. Como já citado, a idade de início da DH costuma ser entre 35-44 anos, porém, os sintomas da DH podem surgir em qualquer momento entre 1 e 80 anos e antes disso os pacientes são saudáveis, não apresentando anormalidades clínicas perceptíveis <sup>19</sup>.

Inicialmente, surgem os sintomas motores, os quais são progressivos e caracterizados por movimentos involuntários arrítmicos, chamados de coreia. No início da doença estes movimentos podem ser percebidos apenas como inquietações,

pois são geralmente acompanhados dos movimentos voluntários naturais <sup>11</sup>. Estes movimentos no início acontecem em extremidades distais (dedos das mãos e dos pés) e em pequenos músculos faciais, por exemplo levantar as sobrancelhas e piscar os olhos, porém, gradativamente estas alterações começam a ocorrer em todo o corpo. Além disso, o andar fica instável, o que aparenta sintomas de embriaguez. O paciente pode sofrer engasgos, pois engolir e falar gradualmente se tornam mais difíceis, podendo posteriormente causar até mudez <sup>9</sup>.

Na grande maioria dos pacientes também ocorre disfunção cognitiva, que inicialmente se caracteriza por dificuldades de organização, tomada de decisões, multitarefas e planejamento. Com o passar do tempo estes sintomas progridem para perda de memória e diagnóstico definitivo de demência <sup>11</sup>. Este declínio cognitivo pode surgir antes dos primeiros sintomas motores, contudo, também é possível que os primeiros sinais apareçam apenas em fases avançadas da doença <sup>9</sup>.

Os sintomas psiquiátricos também são comuns na fase inicial da doença, podendo ser confundidos pelos familiares como mudança de personalidade, pois ocorrem sintomas como irritabilidade, alterações de humor, falta de atenção e impulsividade <sup>11</sup>. Geralmente a irritabilidade é um dos primeiros sinais, porém, está presente em todos os estágios da doença e pode se apresentar de diversas formas, desde discussões exageradas até agressões físicas, tendo prevalência entre 22% e 66% dos pacientes <sup>9,11</sup>. Nas fases avançadas da doença, os sintomas costumam se caracterizar por considerável apatia ou redução de iniciativa, criatividade e curiosidade <sup>11</sup>. Esses sintomas são interpretados pelos familiares como depressão, pois o paciente costuma reduzir as interações e se torna mais retraído e desinteressado. Entretanto, os pacientes geralmente negam o sentimento de tristeza e costumam descrever seu humor como bom <sup>11</sup>. Comportamentos passivos e perda de interesse são caracterizados também como apatia e frequentemente pode ser difícil diferenciar apatia de depressão <sup>9</sup>. A apatia geralmente é a característica mais comum da DH, sendo progressiva e de alta prevalência <sup>2011</sup>.

A depressão é mais frequente na fase inicial da doença, mais especificamente quando ocorre o diagnóstico, porém, também pode surgir nos períodos em que ocorre maior comprometimento da independência do paciente. Conjuntamente, estes períodos são os de maior risco para suicídio e ideação suicida, os quais são comuns em pessoas com DH. No entanto, a taxa de incidência varia com os resultados dos testes preditivos e com o decorrer da doença <sup>21</sup>. A depressão e o risco de suicídio



costumam reduzir após os períodos citados acima, o que sugere que estes sintomas não são subjacentes a patologia, sendo provavelmente uma reação psicológica relacionada ao stress de descobrir uma doença neurodegenerativa e de perder a independência <sup>11</sup>. Contudo, segundo estimativas, a prática de suicídio é de cerca de 5 a 10% maior do que na população em geral <sup>19</sup>.

#### 3.1.4 Evolução da doença

Pode-se dividir o curso da vida de uma pessoa com um dos pais com doença de Huntington em estágio de risco, pré-clínico (A) e clínico (B). A fase de risco acaba quando se determina se a pessoa possui a repetição CAG aumentada no cromossomo 4. Se ela apresentar a repetição CAG aumentada, passará pelas fases pré-clínica e clínica. No estágio pré-clínico ocorrem as primeiras mudanças de comportamento e atividade motora. Já no estágio clínico, a coreia é o sintoma mais proeminente, além disso, surge a dependência física e agravamento dos sintomas neurológicos, cognitivos ou psiquiátricos e pode ocorrer morte, principalmente por suicídio <sup>9</sup>.

Muitos anos antes de os sinais motores se tornarem visíveis, podem surgir as alterações psiquiátricas e cognitivas. Em retrospecto, muitos pacientes citam uma mudança gradual no comportamento e desempenho no trabalho, apresentando sensação de esgotamento. Atualmente, sabe-se que esses podem ser os primeiros sinais da doença de Huntington. A progressão da doença leva aos sintomas motores, que se instalam gradativamente e causam mais dependência na vida diária e, por fim, o paciente pode ir a óbito <sup>9</sup>.

Para compreender melhor as necessidades do paciente com DH e criar planos e estratégias individualizadas, é realizada a avaliação da funcionalidade e qualidade de vida. Para avaliar a funcionalidade algumas das ferramentas utilizadas são: Índice de Barthel Modificado (IBM), Mini-Exame do Estado Mental (MEEM) e Escala Unificada de Avaliação da Doença de Huntington (UHDRS). Para avaliar qualidade de vida pode ser utilizado o questionário de Qualidade de Vida Relacionada à Saúde da Doença de Huntington (HDQoL) e o HDQoL-C <sup>22,23</sup>.

O Índice de Barthel Modificado avalia dez atividades básicas de vida diária: alimentação, higiene pessoal, uso do banheiro, banho, continência do esfíncter anal, continência do esfíncter vesical, vestir-se, transferências cama-cadeira, subir e descer escadas, deambulação ou manuseio da cadeira de rodas (alternativo para

deambulação). É utilizado um sistema de pontuação com variação de 10 a 50, com uma escala de resposta de um a cinco pontos para cada item, aumentando a sensibilidade na detecção das mudanças. Ao final da aplicação, são somados os pontos em cada item, chegando a um escore total, a partir do qual é possível classificar o indivíduo em níveis funcionais: dependência total – 10 pontos; dependência severa – 11 a 30 pontos; dependência moderada – 31 a 45 pontos; ligeira dependência – 46 a 49 pontos e independência total – 50 pontos <sup>22</sup>.

O Mini-Exame do Estado Mental avalia o desempenho cognitivo global utilizando tarefas de orientação temporal e espacial, avaliando os seguintes fatores: orientação temporoespacial, registro, memória de curto prazo, atenção, cálculo, linguagem e apraxia construcional. Apresenta pontuação que varia de 0 a 30, possuindo níveis de corte diferentes de acordo com a escolaridade do indivíduo: 18 pontos – analfabeto; 21 pontos – 1 a 3 anos de escolaridade; 24 pontos – 4 a 7 anos; 26 pontos – escolaridade maior que 7 anos. A partir destes pontos de corte é possível determinar a presença de declínio cognitivo <sup>22</sup>.

A Escala Unificada de Avaliação da Doença de Huntington avalia a função motora, cognição, comportamento e habilidades funcionais <sup>24</sup>. A seção motora da escala é avaliada pela capacidade de envolvimento motor no desempenho de provas funcionais, que englobam função oculomotora, movimentos orolinguais, tarefas motoras finas, coreia, distonia, parkinsonismo e funções associadas a marcha. Quanto maior a pontuação na capacidade motora total (*Total Motor Score (TMS)*) maior o comprometimento motor. A capacidade funcional total (*Total Functional Capacity (TFC)*) é uma escala de classificação clínica que inclui itens relacionados à capacidade de trabalhar, lidar com finanças, realizar tarefas domésticas, autocuidado e capacidade de viver de forma independente, de modo que pontuações mais altas indicam melhor funcionamento e maior independência. Para fazer a avaliação cognitiva, são realizados os testes de fluência verbal, dígitos de símbolos e Stroop. A avaliação comportamental mede a frequência e a gravidade dos sintomas relacionados ao afeto, conteúdo do pensamento e estilos de enfrentamento. Pontuações mais altas indicam distúrbios mais graves <sup>23,24</sup>.

O questionário de Qualidade de Vida Relacionada à Saúde da Doença de Huntington é uma ferramenta padronizada que mede a qualidade de vida relacionada à saúde. É um instrumento específico, relevante, confiável e válido para medir o impacto da doença de Huntington <sup>25</sup>. A partir deste instrumento são construídas

diferentes escalas para atender diferentes propósitos clínicos ou de investigação: escala resumo, três escalas primárias (física e cognitiva; autorrepresentação e emoções; e serviços recebidos) e seis escalas específicas (cognitiva; expectativas e preocupações; serviços; física e funcional; estado de humor; e vitalidade). Ao responderem a este questionário os pacientes fazem uma análise autorrelatada da sua qualidade de vida a partir de um conjunto de 40 itens, pontuados numa escala de 0 (constantemente) a 6 (nunca). A pontuação atingida é transformada numa escala de 0 (pior estado de saúde) a 100 (melhor estado de saúde) <sup>26</sup>.

Outro instrumento utilizado para avaliar a qualidade de vida é o HDQoL-C, uma ferramenta específica para a doença de Huntington, multidimensional e validada para medir a qualidade de vida subjetiva em cuidadores e familiares de pessoas com DH. É uma ferramenta que avalia a saúde física do indivíduo, estado psicológico, nível de independência, relações sociais, crenças pessoais e relação com características do ambiente <sup>26</sup>.

### 3.1.5 Diagnóstico

Quando pacientes apresentarem algum dos seguintes sintomas deve surgir a suspeita de DH: deficiência motora, incluindo coreia; histórico familiar; distúrbios cognitivos e psiquiátricos <sup>27</sup>.

Nos casos em que é possível um diagnóstico precoce, devido ao histórico familiar, ocorre uma grande vantagem, pois é possível iniciar a terapia antes que ocorra uma perda neuronal significativa <sup>28</sup>. Contudo, nos casos em que não se conhece os pais ou em casos de morte jovem dos parentes de primeiro grau por outros motivos, pode ser difícil estabelecer o diagnóstico precoce <sup>9</sup>

O teste genético é o padrão ouro atual para o diagnóstico. Este teste é realizado através do DNA do paciente, utilizando uma coleta de sangue, e é direcionado para mostrar o tamanho da repetição CAG, de modo que 26 ou menos repetições não estão relacionadas ao fenótipo DH. Pacientes com alelos de 27-35 são incomuns e até o momento não associados ao fenótipo DH, no entanto, para os filhos, existe o risco de desenvolver a doença. Já uma repetição CAG de 36 a 39 representa risco de manifestar a DH, contudo, os pacientes que apresentam essas repetições podem ser assintomáticos. Já 40 ou mais repetições estão relacionados ao desenvolvimento de DH <sup>29</sup>.

No caso de pais já cientes do próprio status genético, é possível também realizar o diagnóstico pré-natal, pois o teste pode ser feito em toda célula com núcleo contendo DNA <sup>9</sup>. O procedimento é realizado com amostragem de vilosidades coriônicas, sendo realizado entre a 10<sup>a</sup> e a 12<sup>a</sup> semana de gestação. Já a amniocentese é feita entre a 15<sup>a</sup> e a 17<sup>a</sup> semana, período no qual pode ser realizado o teste de DNA <sup>29</sup>.

### 3.1.6 Diagnóstico diferencial

Nem todos os pacientes que apresentam um fenótipo clínico e história familiar sugestiva de DH têm realmente a mutação da DH, alguns podem apresentar distúrbios semelhantes. Devido aos recentes avanços da neurogenética, a lista de diagnósticos diferenciais para coreia vem se expandindo. Esses distúrbios são raros (cerca de 1%) e inclui doenças como coreia familiar benigna, neuroacantocitose, atrofia dentatorubropalidoluisiana (DRPLA), doença de Machado-Joseph (SCA-3), doenças priônicas e uma doença reconhecida recentemente chamada Huntington-like 2. Portanto os testes genéticos são essenciais para confirmar o diagnóstico <sup>30,31</sup>.

Quando a coreia é o sinal de apresentação e mais proeminente, obter uma história é o primeiro e mais valioso passo. Os diagnósticos diferenciais frequentes para coreia de sinais motores são apresentados na Tabela 2. Em muitos casos, a causa subjacente é outro distúrbio interno geral ou um distúrbio iatrogênico. Apenas muito poucos distúrbios geneticamente determinados são responsáveis por síndromes coreáticas. Em cerca de 1% dos casos diagnosticados clinicamente como DH pelo clínico, o teste genético não confirma o diagnóstico. São as chamadas fenocópias. As fenocópias são definidas por um diagnóstico clínico de DH com coreia, sinais psiquiátricos e/ou cognitivos e um padrão de herança autossômica dominante ou história familiar. Nos últimos anos, vários foram descritos (Tabela 3).

### 3.1.7 Tratamento

Até o momento não existem medicamentos que interrompam ou revertam o progresso da doença. Contudo, existe tratamento farmacológico que busca amenizar os sintomas da DH <sup>13</sup>. Este tratamento inclui os seguintes medicamentos: tetrabenazina (TBZ), deutetabenazina e neurolépticos de primeira geração como por

exemplo o haloperidol, ou neurolépticos atípicos de segunda geração, como por exemplo risperidona, olanzapina, quetiapina e ziprasidona <sup>32</sup>.

Em 2008, a TBZ foi aprovada pelo *Food and Drug Administration* (FDA), para tratamento da coreia na DH. A TBZ costuma ser bem tolerada e é uma boa opção para o início do tratamento dos movimentos coreáticos, até mesmo em estágios iniciais <sup>33,34</sup>. Seus possíveis efeitos colaterais incluem depressão, parkinsonismo, agitação, insônia e sedação <sup>34</sup>. Seu mecanismo de ação consiste em inibir a via da dopamina ao ligar-se ao transportador de monoamina vesicular (VMAT) tipo 2, conseqüentemente reduzindo a recaptção de monoaminas na fenda sináptica. Isto resulta em uma depleção de monoaminas, incluindo a dopamina, e como resultado ocorre uma hipocinese, que provoca uma redução da gravidade da coreia. Recomenda-se uma dose inicial de 12,5 mg/dia, uma a três vezes por dia. A dose máxima diária é de 200 mg. Apesar dos efeitos benéficos sobre a coreia, certas funções cognitivas podem piorar sob medicação com TBZ <sup>34,35</sup>. Em 2017, para o tratamento da coreia também foi aprovada pelo FDA a deutetrabenazina (Austedo®), que é a versão deuterada da TBZ. A deutetrabenazina possui farmacocinética aprimorada, tendo meia-vida mais longa e picos de concentração mais baixos, demonstrando ter melhor tolerabilidade e menor dosagem e frequência de administração. O medicamento foi registrado na forma farmacêutica de comprimidos revestidos, nas concentrações de 6 mg, 9 mg e 12 mg. A dose inicial recomendada para pacientes com DH é de 6 mg, administrada oralmente, uma vez ao dia, e pode ser elevada em intervalos semanais em incrementos de 6 mg ao dia a uma dosagem diária máxima recomendada de 48 mg. Apenas a deutetrabenazina é aprovada no Brasil, porém, não está disponível no SUS<sup>36</sup>.

Os neurolépticos são usados para tratar a agitação, psicose e coreia e seu mecanismo de ação consiste em bloquear a neurotransmissão de DA. Eles costumam ser as drogas de escolha para pacientes com sintomas psiquiátricos como depressão e também com coreia. Os neurolépticos de primeira geração (típicos), como o haloperidol e a clorpromazina, são indicados principalmente em casos de coreia grave. Já para pacientes com coreia moderada prefere-se os neurolépticos de segunda geração (atípicos), como o aripiprazol, quetiapina e risperidona, pois apresentam menor risco de sintomas extrapiramidais <sup>36</sup>. Um efeito adverso comum é o ganho de peso, contudo, em alguns casos pode ser vantajoso, pois a perda de peso

não intencional é um dos sintomas da DH e muitos pacientes enxergam isso como um ponto negativo <sup>34</sup>.

Apesar de o sintoma psiquiátrico mais frequente em indivíduos com DH ser a depressão ainda não existem estudos suficientes sobre o tratamento da depressão na DH. Contudo, foram observados benefícios com o uso de inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs) <sup>37</sup>.

Para o transtorno obsessivo-compulsivo, o qual acontece em cerca de 10-50% dos indivíduos com DH, ainda não existe tratamento baseado em evidências <sup>20</sup>. Porém, especialistas recomendam drogas antiepilépticas estabilizadoras do humor, ISRSs, clomipramina e antipsicóticos <sup>38</sup>.

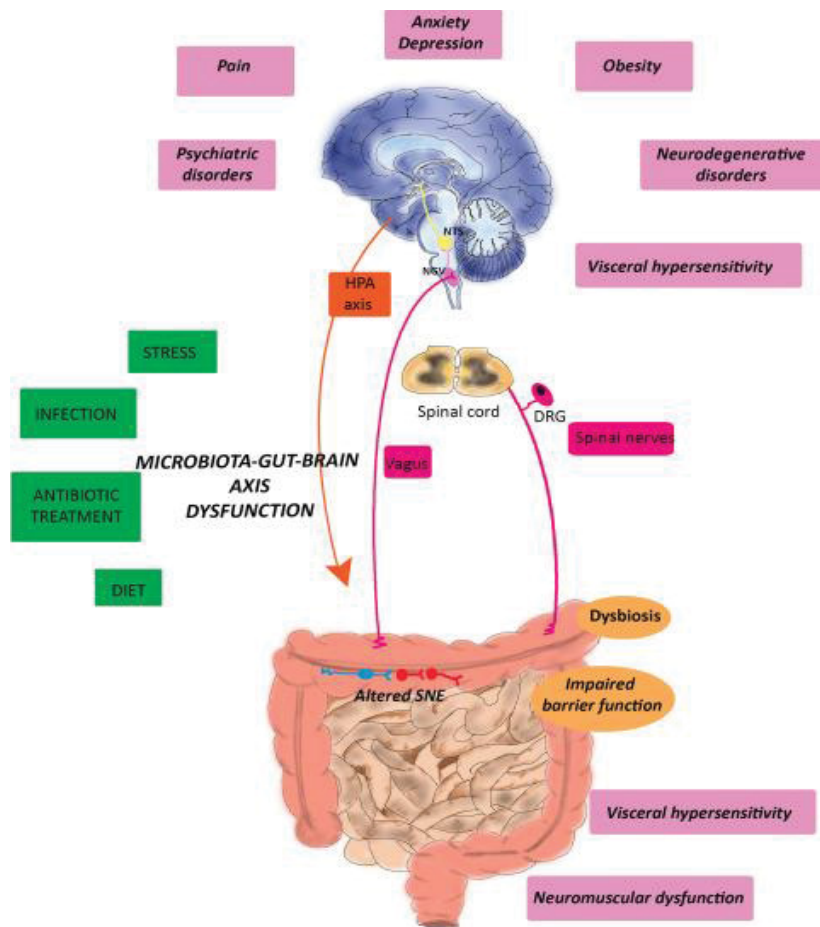
Alguns estudos demonstram que intervenções não farmacológicas, como por exemplo fisioterapia, podem ser benéficas para pacientes com DH, levando a melhoras na função motora, especialmente na marcha e no equilíbrio, contudo, os exercícios precisam ser mantidos continuamente <sup>39</sup>.

### 3.2 EIXO INTESTINO-CÉREBRO

Descobertas recentes apontam que a microbiota intestinal humana interfere no funcionamento e desenvolvimento do SNC, através do eixo intestino-cérebro (FIGURA 2) <sup>40</sup>. O eixo intestino-cérebro é formado pelo sistema nervoso entérico (rede de neurônios que integram o sistema digestório), a microbiota intestinal e o cérebro <sup>5</sup>. Esta interação ocorre porque o SNC conecta-se ao intestino interagindo com o Sistema Nervoso Entérico (SNE) e com inúmeras células gastrointestinais <sup>41</sup>.



Figura 2 - EIXO INTESTINO-CÉREBRO



FONTE: Reproduzido de Bistoletti M (2020)

A microbiota intestinal é formada por múltiplos micro-organismos, incluindo bactérias, vírus, fungos, protozoários e arqueia <sup>42</sup>. É formada por mais de 35.000 espécies bacterianas, podendo haver mais de 10 milhões de genes não redundantes na microbiota intestinal <sup>43</sup>. A maior parte é composta pelos seguintes filos bacterianos: Firmicutes, Bacteroidetes e Actinobacteria <sup>43,44</sup>. A microbiota intestinal é influenciada pela genética do hospedeiro e pelas condições ambientais <sup>45</sup>. A composição e atividade da microbiota intestinal são alteradas com o decorrer dos anos e estudos mostram que em modelos animais a manipulação da microbiota intestinal interfere na atividade metabólica, envelhecimento e longevidade <sup>46</sup>. Além disso, fatores ambientais como dieta, infecções e exposições químicas, influenciam a microbiota intestinal em humanos e modelos animais <sup>47</sup>. Outro fator importante é a colonização microbiana durante o período fetal, intraparto e após o nascimento, a qual é crucial no mutualismo

hospedeiro-microbiano; a principal função é a maturação e o desenvolvimento do sistema imunológico dos recém-nascidos. A microbiota vaginal materna fornece ao recém-nascido maior variedade de micro-organismos colonizadores, responsáveis por estimular e preparar o sistema imunológico do lactente, portanto, o parto vaginal é a via de parto ideal, e as cesáreas só devem ser realizadas quando houver indicação médica <sup>48</sup>.

A comunicação entre o eixo-intestino-cérebro pode influenciar o comportamento, a função cerebral, e especialmente a cognição <sup>8</sup>. Desta forma, tem aumentado o número de estudos relatando alterações na microbiota intestinal em pacientes com doença de Huntington, esclerose lateral amiotrófica, Parkinson (DP) e Alzheimer (DA). Além disso, a microbiota intestinal tem sido um alvo terapêutico para doenças intestinais. De acordo com o estudo de Caldeira L (2020) <sup>49</sup> o transplante de microbiota fecal teve efeitos positivos no tratamento da doença inflamatória intestinal. Estas alterações podem influenciar positiva ou negativamente as características de doenças neurodegenerativas <sup>45</sup>.

A disbiose intestinal, causada principalmente por estresse, má alimentação e uso de drogas, pode provocar alterações no eixo intestino-cérebro, causando uma perda de integridade epitelial, aumentando a permeabilidade <sup>50</sup>. Este aumento da permeabilidade intestinal pode permitir a entrada de moléculas pró-inflamatórias potentes na circulação sistêmica, como por exemplo lipopolissacarídeos, que podem provocar ruptura da barreira hematoencefálica <sup>51</sup>. Além disso, também pode ocorrer inflamação de baixo grau, endotoxemia e estresse oxidativo, que são fatores presentes em diversas deficiências neurológicas<sup>50</sup>. O fator neurotrófico e outras proteínas importantes para a cognição também podem ser afetados, o que ocorreria pela liberação de metabólitos derivados de bactérias <sup>51</sup>.

Portanto, devido a relevância da microbiota intestinal na prevenção de neuroinflamação e danos cerebrais, ela pode ser um importante alvo terapêutico em doenças neurodegenerativas, visando, por exemplo, tratamentos que incluem transplante de microbiota fecal e uso de prebióticos e probióticos <sup>5150</sup>.

Define-se probiótico como micro-organismos vivos, que quando usados nas quantidades corretas são benéficos para o hospedeiro <sup>51</sup>. Normalmente incluem bactérias produtoras de ácido láctico pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. São conhecidos por atuar na prevenção de infecções do trato urinário

em mulheres, além de serem benéficos no tratamento de doenças alérgicas, como por exemplo o eczema atópico <sup>51</sup>.

Já prebiótico é definido como uma substância seletivamente fermentada que causa alterações específicas na composição e/ou atividade da microbiota intestinal, trazendo benefícios para o hospedeiro <sup>52</sup>. Prebióticos também podem ser definidos como fibras não digeríveis que atuam como substrato para os probióticos, melhorando seu crescimento e funcionamento <sup>51</sup>. Prebióticos atuam principalmente no tratamento de constipação, inflamação intestinal e câncer de cólon<sup>51</sup>. Alguns exemplos de prebióticos são: inulina, galacto-oligossacarídeos (GOS) e fruto-oligossacarídeos (FOS) <sup>53</sup>.

Estudos recentes têm utilizado probióticos e prebióticos para restaurar o equilíbrio microbiano em idosos, buscando benefícios gerais para a saúde física e cerebral <sup>54</sup>. Estes têm potencial de oferecer alívio para doenças neurodegenerativas como a DH, pois podem reduzir a permeabilidade intestinal, translocação microbiana e neuroinflamação no SNE <sup>53</sup>. Inclusive, foi criado o termo psicobiótico, que é definido como uma nova classe de probióticos que apresentam aplicação específica no tratamento de doenças psiquiátricas. Um exemplo é o Probiants®, o primeiro psicobiótico lançado no mercado brasileiro. Este é um suplemento alimentar que possui cepas *Lactobacillus helveticus* R0052 e *Bifidobacterium Longum* R0175 em cápsula <sup>55</sup>. Contudo, as evidências sobre os efeitos dos psicobióticos em doenças neurodegenerativas ainda são limitadas, sendo necessários estudos adicionais para determinar a eficácia e os mecanismos destas substâncias <sup>56</sup>.

### 3.3 SAÚDE BASEADA EM EVIDÊNCIAS

No final do século XX, profissionais da saúde em busca de otimizar os serviços prestados à população, reduzir custos operacionais e garantir a qualidade da evidência médica científica incorporada na prática clínica criaram a Saúde Baseada em Evidências (SBE) <sup>57</sup>.

Devido ao grande volume de informações e variabilidade na qualidade destas, existe a necessidade de elaboração de sínteses que facilitem o acesso e possibilitem conclusões baseadas em diversas fontes de evidência, fornecendo subsídio científico para a tomada de decisão. Dessa forma, fontes primárias e secundárias de evidência são utilizadas. As revisões sistemáticas, fontes secundárias de evidência, são

essenciais no desenvolvimento de diretrizes clínicas; elas são baseadas na melhor evidência disponível e têm processos sistemáticos de revisão da literatura, permitindo adequado embasamento para a avaliação da evidência <sup>5857</sup>.

As práticas baseadas em evidência não estão isentas de críticas, contudo, podem contribuir para a fundamentação de uma decisão clínica ou de saúde pública. A SBE é caracterizada pela utilização da epidemiologia clínica como ferramenta para melhor apoio à tomada de decisão individual ou coletiva. Deve contemplar, além do conhecimento técnico, os valores e preferências dos pacientes e a experiência clínica <sup>5957</sup>.

A SBE é utilizada nas Avaliações de Tecnologias em Saúde (ATS), que são medidas implementadas em conjunto com o governo dos países buscando a redução e solução dos problemas em saúde <sup>59</sup>. No Brasil, em conjunto com o Ministério da Saúde, a Conitec (Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS) atua nas decisões envolvendo as tecnologias de saúde, como mudanças de protocolos e diretrizes de tratamentos e diagnósticos de doenças, por exemplo <sup>60</sup>.

### 3.3.1 Tipos de estudos epidemiológicos

Na epidemiologia clínica, os estudos são divididos em estudos primários, os quais correspondem a investigações originais, como por exemplo estudo de coorte, ensaio clínico randomizado e relato ou série de casos, e em estudos secundários, que têm como objetivos formar conclusões a partir de estudos primários, como por exemplo revisões sistemáticas com meta-análise <sup>61</sup>.

Os estudo também podem ser divididos em intervencionais, os quais são relacionados a estudos clínicos *in vivo* e *in vitro* de medidas de intervenção para regulação e tratamento de doenças ou condições de saúde; ou observacionais, que têm como objetivo avaliar a população em seus variados desfechos clínicos e sua exposição a eventuais fatores causais (FIGURA 3) <sup>6263</sup>.

Os estudos observacionais se dividem em descritivos e analíticos. Os estudos descritivos avaliam os fatores epidemiológicos, buscando caracterizar os indivíduos incluídos, além de avaliar os fatores de incidência e prevalência de determinada condição, utilizando dados pré-existentes <sup>63</sup>. Além de identificar grupos de risco buscando a prevenção de doenças, podem gerar hipóteses etiológicas para investigações futuras. Os estudos observacionais descritivos incluem relatos e séries

de casos, que analisam um caso individual específico ou características de um número de pacientes com uma determinada doença ou outro efeito, respectivamente<sup>64</sup>. Apesar de fornecerem baixo nível de evidência científica, são importantes para levantar hipóteses e direcionar o foco sobre alguma condição ou doença<sup>65</sup>.

O estudo analítico tem como objetivo compreender as possíveis associações entre uma exposição e uma condição de saúde. Os estudos analíticos abrangem, principalmente: estudos ecológicos; estudos transversais, ou seccionais; estudos caso-controle e estudos coorte, ou longitudinais<sup>63,62</sup>.

Os estudos ecológicos, ou de correlação, realizam a comparação entre ocorrência da condição de saúde e a exposição de interesse em determinado grupo populacional (populações de países, regiões ou municípios, por exemplo) para verificar a possível existência de associação entre elas, utilizando uma abordagem mais coletiva, pois o enfoque se dá em grupos populacionais e não em informações de doença e exposição dos indivíduos, o que é útil para levantar diversas hipóteses<sup>62</sup>. Contudo, existe a possibilidade de viés ecológico ao avaliar as associações, pois uma associação observada entre agregados não significa, obrigatoriamente, que a mesma associação ocorra em nível de indivíduos<sup>63,66</sup>.

Os estudos transversais determinam simultaneamente a condição de saúde e a exposição de interesse, medindo assim a prevalência da condição ou doença na população. Este tipo de estudo realiza uma comparação entre doentes e não doentes, portanto, estudos transversais não são adequados para determinar as associações de causa-efeito, já que não se pode avaliar se a exposição antecede ou é consequência da condição ou doença. Contudo, são úteis em enfatizar diferentes aspectos dos indivíduos e suas condições, evidenciando tendências e necessidades em saúde da população<sup>63,66</sup>.

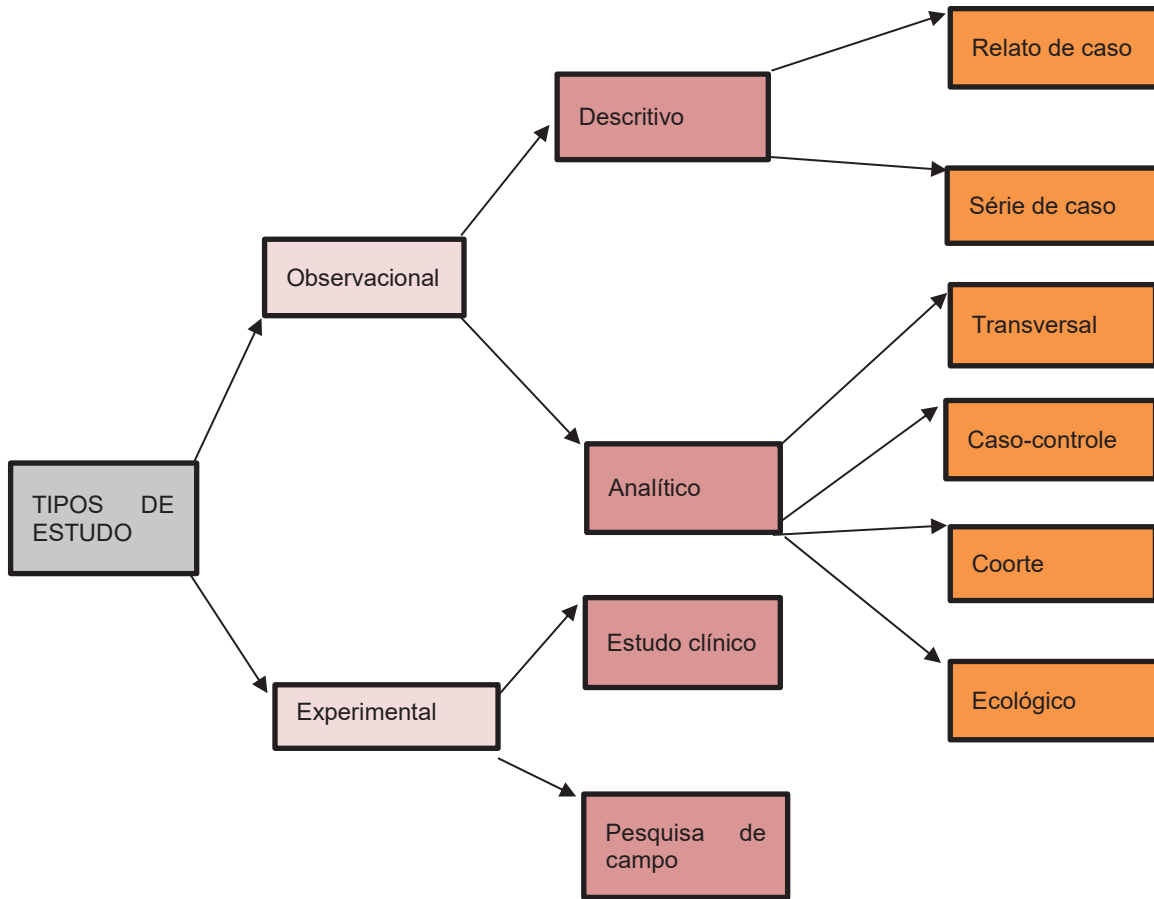
Nos estudos caso-controle, um grupo ou série de pacientes que têm determinada doença de interesse (caso) e um grupo de indivíduos sem a doença (controle), ou grupo de comparação, são selecionados para investigação<sup>66</sup>. As vantagens são que identificam indivíduos com base em seu status de doença, permitindo o estudo de várias exposições dentro de um grupo pré-definido de casos e de controles e, além disso, podem ser úteis para estudar os processos em que o período de tempo compreendido entre a exposição e o desenvolvimento da doença é especialmente longo. Já as desvantagens incluem viés de memória, pois uma das formas de obter os dados é por meio de entrevistas e os casos e os controles podem

lembrar-se do seu status de exposição de forma diferente. Outra desvantagem é que estudos caso-controle fornecem apenas informações sobre o risco relativo ou sobre a razão de chance (*odds ratio*) da doença, já que eles não podem ser utilizados para calcular risco atribuível, nem podem ser utilizados para calcular a incidência específica da doença em qualquer grupo <sup>67</sup>.

Nos estudos de coorte, longitudinais ou de incidência, os indivíduos são classificados ou selecionados segundo o status de exposição expostos e não expostos, sendo seguidos para avaliar a incidência da doença em determinado período de tempo <sup>64</sup>. Podem ser prospectivos ou retrospectivos, e fornecerem informações sobre a etiologia de doenças e riscos de desenvolvê-la e também podem ser utilizados para avaliar os riscos e benefícios do uso de determinada medicação. Uma desvantagem observada frequentemente é a perda de participantes ao longo do seguimento, o que pode comprometer a validade dos resultados <sup>64,66</sup>.



Figura 3 - CLASSIFICAÇÃO GERAL DOS ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS

FONTE: adaptado de Fernandez-Llimos *et al.* (2019)

### 3.3.2 Revisão sistemática

Uma revisão sistemática busca combinar resultados de diferentes estudos para responder uma única questão de pesquisa. Dessa forma, é importante que a revisão informe qual é a certeza no conjunto desses diferentes estudos como um todo<sup>58</sup>. Deve ser realizada de maneira reprodutível por meio de um processo de busca, seleção, avaliação e síntese das evidências disponíveis, utilizando uma metodologia confiável e rigorosa <sup>68</sup>.

As etapas de condução de uma revisão sistemática, de acordo com o JBI e com as Diretrizes Metodológicas do Ministério da Saúde (2014), são:

- 1) Formulação da questão relevante e norteadora da pesquisa, de acordo com o acrônimo PICOS, referente aos critérios de elegibilidade relativos à População, Intervenção, Comparação, Desfechos (*outcomes*) e Tipos de estudos incluídos (*study design*);
- 2) Revisão de literatura para confirmar a justificativa do estudo;
- 3) Registro do protocolo de pesquisa (plataforma PROSPERO, por exemplo) e declaração de eventuais conflitos de interesses;
- 4) Elaboração de estratégia de busca objetiva para cada base de dados a ser utilizada na identificação dos estudos;
- 5) Realização de triagem dos artigos por seus títulos e resumos, e, após pré-seleção, leitura na íntegra dos artigos selecionados, a fim de incluir os estudos que atendam os critérios de elegibilidade;
- 6) Extração dos dados dos estudos incluídos e realização de avaliação da qualidade metodológica para verificar potencial risco de viés;
- 7) Avaliação dos dados qualitativamente e/ou quantitativamente por análises estatísticas (meta-análise);
- 8) Síntese e apresentação dos dados obtidos <sup>69,70</sup>.

Com a difusão da SBE e a necessidade constante de respostas rápidas às questões clínicas, as revisões sistemáticas e meta-análises têm sido amplamente utilizadas. E como nem sempre é possível a realização de ensaios clínicos randomizados, revisar os estudos observacionais é uma alternativa na resposta de questões de pesquisa em saúde <sup>68</sup>.

Meta-análise é um método estatístico para agrupar os resultados de dois ou mais estudos independentes sobre uma mesma questão de pesquisa, combinando, em uma medida resumo, os resultados de tais estudos. Geralmente é feita após a realização de uma revisão sistemática <sup>58</sup>. Contudo, em estudos observacionais e ensaios clínicos, vieses de seleção e publicação (estudos apenas de resultados positivos) são comumente observados <sup>59</sup>. Dessa forma, ao delinear o estudo, devem ser avaliados os vieses e a variabilidade, com o objetivo de observar a heterogeneidade metodológica e clínica antes da condução das avaliações estatísticas <sup>59</sup>. A meta-análise deve ser realizada apenas para os resultados de estudos considerados semelhantes do ponto de vista clínico e metodológico, portanto, nem sempre é possível realizar a síntese estatística. A meta-também possibilita avaliar a heterogeneidade entre os estudos. A heterogeneidade clínica se refere às diferenças entre os estudos com relação aos participantes, intervenções, comparadores, e resultados, enquanto a heterogeneidade metodológica está relacionada ao desenho do estudo e à qualidade metodológica dos estudos (risco de viés). Existem softwares para a realização desse tipo de análise, a exemplo do RevMan 5, um programa produzido pela colaboração Cochrane<sup>49,71</sup>.

## 4 MÉTODOS

Para conduzir e reportar os dados da revisão sistemática foram utilizadas, respectivamente, a diretriz metodológica internacional “*JBI Manual for Evidence Synthesis*” e as recomendações do PRISMA <sup>70,72</sup>. A estratégia de busca contemplou descritores referentes à doença de Huntington (*Huntington's disease*), coreia (*chorea*) e microbiota, os quais foram combinados por meio dos operadores Booleanos OR e AND (as estratégias completas para cada base de dados utilizada estão apresentadas no Apêndice 1). As buscas sistemáticas foram conduzidas em março de 2023 no Pubmed, Scopus e Web of Science, sem restrição data. A busca manual foi realizada nas listas de referências dos artigos incluídos. Esse trabalho possui protocolo registrado na plataforma PROSPERO (Número de registro: CRD42022314547).

### 4.1 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Foram incluídos estudos primários que avaliaram a composição da microbiota intestinal em indivíduos com DH. Artigos publicados em caracteres não romanos (e.g., chinês, japonês) foram excluídos, assim como artigos que não focassem na composição da microbiota intestinal em indivíduos com DH.

### 4.2 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

Os estudos recuperados pela busca sistemática nas bases de dados eletrônicas foram selecionados em duas etapas (triagem e elegibilidade), por dois revisores independentes, com uma reunião de consenso ao final de cada uma, utilizando uma planilha do Microsoft Excel®. Na primeira etapa foi realizada a leitura de títulos e resumos, mantendo para a próxima etapa artigos que atendessem os critérios de elegibilidade e, em caso de dúvida, o artigo também era incluído. Na segunda etapa, os artigos incluídos na triagem foram lidos na íntegra e, em caso de discordâncias, um terceiro revisor foi consultado. Após consenso final, os artigos incluídos na fase de elegibilidade tiveram os dados extraídos.

### 4.3 EXTRAÇÃO DE DADOS

Os dados foram extraídos por dois revisores, de maneira independente, realizando-se reunião de consenso ao final para comparar e conciliar os dados coletados. Foram extraídos dados referentes ao país de publicação, ao desenho do estudo, reporte de conflitos de interesse e financiamento, dados dos participantes (número de indivíduos, idade, sexo, comorbidades), método usado para avaliação da microbiota intestinal, composição da microbiota intestinal, índice de diversidade da microbiota intestinal, metabólitos das bactérias intestinais, principais conclusões do estudo.

#### 4.4 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE METODOLÓGICA

Para avaliar a qualidade metodológica e potenciais riscos de vieses dos estudos incluídos em uma revisão sistemática podem ser utilizadas diversas ferramentas, de acordo com o tipo de estudo <sup>59</sup>.

Na presente revisão sistemática, os estudos do tipo caso-controle foram avaliados aplicando-se a Escala Newcastle-Ottawa (NOS), e os estudos realizados com animais foram avaliados por meio da ferramenta *SYRCLE's RoB tool*. Os estudos publicados na forma de resumo <sup>73,74</sup> não tiveram a qualidade metodológica avaliada, devido à dificuldade de extrair as informações necessárias. A etapa de avaliação da qualidade metodológica também foi realizada em duplicata.

A NOS foi concebida por Wells et al. e é utilizada para avaliação da qualidade metodológica de estudos não randomizados. A escala NOS pontua os artigos de acordo com oito questões, em três domínios (seleção, comparabilidade e exposição), com uma pontuação total de 9. Estudos com pontuação de zero a 3 foram classificados como tendo qualidade baixa, de 4 a 6 como qualidade moderada e de 7 a 9 como tendo qualidade alta <sup>75</sup>

A *SYRCLE's RoB tool* é uma ferramenta baseada na Cochrane RoB (*Revised Cochrane risk-of-bias tool for randomized trials*), a qual é usada para avaliar o risco de viés de ensaios clínicos randomizados. Porém, como os estudos de intervenção com animais diferem dos ensaios clínicos randomizados em muitos aspectos, a metodologia foi adaptada e otimizada para avaliar a qualidade metodológica e aspectos de viés que desempenham um papel importante em experimentos com animais. Esta ferramenta contém 10 domínios relacionados ao viés de seleção, viés de desempenho, viés de detecção, viés de atrito, viés de relato e outros vieses. Para

atribuir um julgamento de risco de viés baixo, alto ou pouco claro a cada item mencionado na ferramenta, existe uma lista detalhada com perguntas sinalizadoras para auxiliar no processo de julgamento. Um julgamento “sim” indica um baixo risco de viés; um julgamento “não” indica alto risco de viés; o julgamento “incerto” indica que não houve detalhes suficientes relatados para avaliar o risco de viés adequadamente <sup>76,77</sup>. Neste estudo, adaptamos esta ferramenta, pois os grupos não foram alocados pra intervenções diferentes, portanto, para o domínio de seleção não foi realizada a avaliação pois não se aplica.

#### 4.5 SÍNTESE DOS DADOS

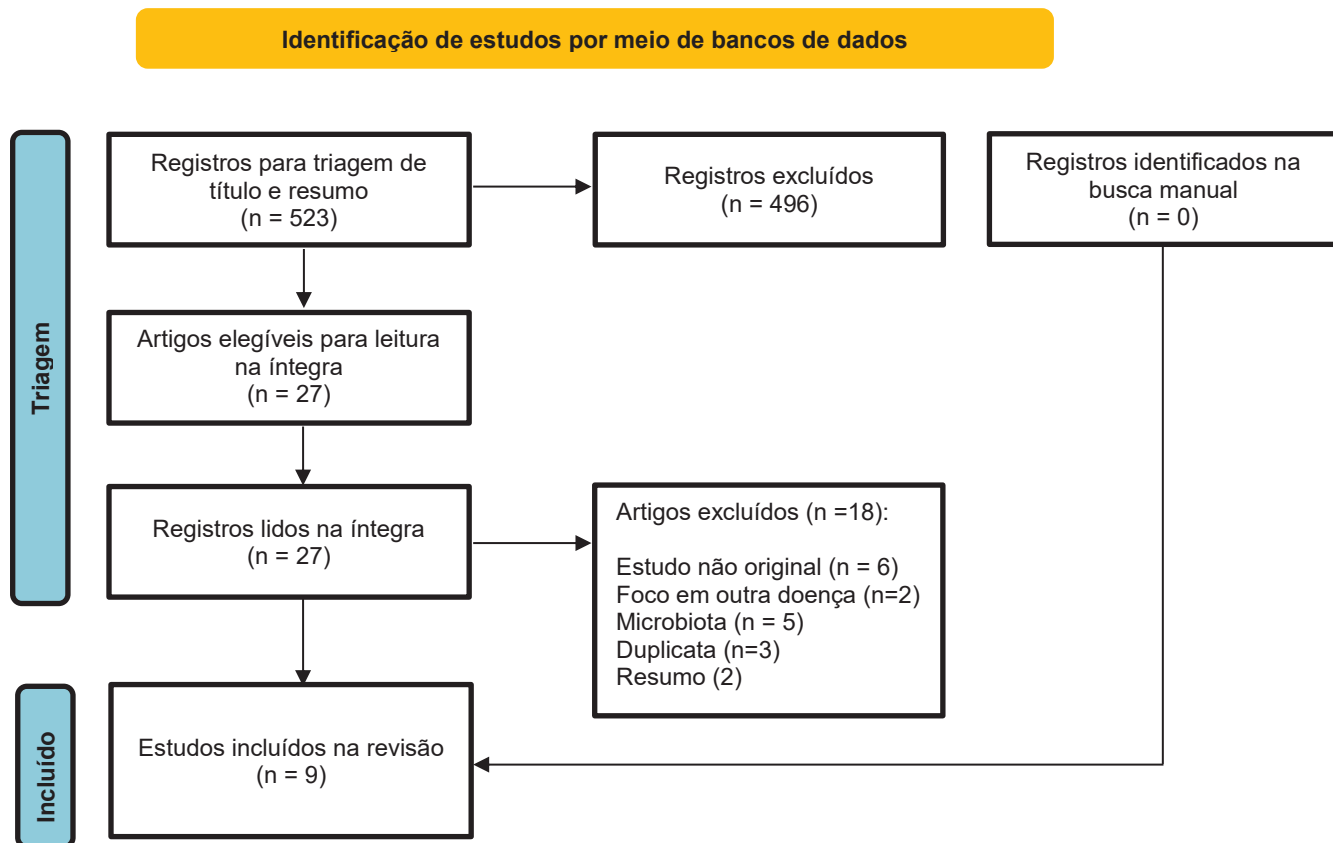
Os resultados foram sumarizados de forma descritiva, por meio de textos e quadros, e discutidos na sequência. Devido à alta variabilidade dos dados não foi possível conduzir análise estatística. Foi preenchido o PRISMA checklist e anexado no APÊNDICE 4.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 ETAPAS DA REVISÃO SISTEMÁTICA

As buscas nas bases de dados resultaram em um total de 523 artigos. Após a leitura dos títulos e resumos 496 estudos foram excluídos, pois não cumpriam os critérios de inclusão previamente estabelecidos. Os 27 artigos restantes foram então lidos na íntegra, dos quais 9 foram incluídos na presente revisão sistemática. Nenhum estudo foi recuperado por meio da busca manual (FIGURA 4).

Figura 4 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE SELEÇÃO DOS ARTIGOS



FONTE: Autor (2023).

## 5.2 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

Dos 9 estudos incluídos, um foi publicado em 2015 <sup>78</sup>, cinco em 2020 <sup>7,79–82</sup> um em 2021 <sup>83</sup> e dois em 2022<sup>84,85</sup>. Três estudos foram classificados como estudo caso-controle <sup>79,80,86</sup> e seis classificados como estudo realizado com animais<sup>7,8,81,83–85</sup>, conforme demonstrado no QUADRO 1.

QUADRO 1 – CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS ESTUDOS INCLUIDOS

Autor, ano	País	Tipo de estudo	Conflitos de interesse	Financiamento
Du G, 2020	China	Estudo caso-controle	Não	Sim
Kong, 2020	Australia	Estudo realizado com animais	Não	Sim
Kong, 2021	Australia	Estudo realizado com animais	Não	Sim
Radulescu, 2020	Singapura	Estudo realizado com animais	Não	Sim
Rosas, 2015	Estados Unidos	Estudo caso-controle	Não	Sim
Stan, 2020	Suécia	Estudo realizado com animais	Não	Sim
Wasser, 2020	Australia	Estudo caso-controle	Não	Sim
Gubert, 2022	Australia	Estudo realizado com animais	Não	Sim
Gubert, 2022	Australia	Estudo realizado com animais	Não	Sim

FONTE: A autora (2023).

Todos os estudos declararam pelo menos uma fonte de auxílio financeiro como Lund University (Stan, 2020) e Beijing Tiantan Hospital (Du, 2021). Quanto a eventuais conflitos de interesses, os nove artigos relataram não possuir.



QUADRO 2 - CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS QUE AVALIARAM A FUNCIONALIDADE DOS PACIENTES COM DH

Autor, ano	N	Comorridades	Método usado para avaliar a microbiota	Composição da microbiota	Avaliação de funcionalidade (pacientes com DH)	Conclusão do estudo
Du G, 2021	66	Os critérios de exclusão foram definidos como doenças crônicas graves, como diabetes, insuficiência cardíaca, insuficiência hepática cirrose, malignidade, doenças hematológicas/autoimunes, síndrome do intestino irritável e outros distúrbios do movimento, como como doença de Wilson e coréia-acantocitose. o		Actinobacteria no nível do filo; Deltaproteobactérias e Actinobactérias em o nível de classe; Desulfovibrionales no nível de ordem; Oxalobacteraceae, Lactobacillaceae e Desulfovibrionaceae em o nível familiar; e Intestinimonas, Bilophila, Lactobacillus, Oscillibacter, Gemmiger e Dialister no nível de gênero	UHDRS-M: 35.0 (70.0)	Este estudo primeiro elucida que a microbiota intestinal está alterada em pacientes em HD e correlacionada com características clínicas específicas. Além disso, demonstramos que a microbiota fecal estava relacionada a níveis específicos de citocinas. Revelar as interações precisas entre as respostas imunes microbianas e do hospedeiro pode ajudar a entender melhor a patogênese da DH.
Wasser, 2020	78		16S V3 a V4 rRNA	Especificamente, para os homens, no nível do Filo, Euryarchaeota, Firmicutes	UHDRS-TMS: 9.21	No geral, nossas descobertas sugerem um

			sequenciamento de amostras fecais	<p>e Verrucomicrobia diferiram significativamente entre os grupos. No nível da Família, muitas Famílias diferiram significativamente por gênero entre os grupos, incluindo</p> <p>Acidaminococcaceae,  Akkermansiaceae, Bacteroidaceae,  Bifidobacteriaceae,  Christensenellaceae, Clostridiaceae,  Coriobacteriaceae, Eggerthellaceae,  Enterobacteriaceae,  Erysipelotrichaceae,  Flavobacteriaceae, Lachnospiraceae,  Metanobacteriaceae, Peptococcaceae,  Peptostreptococcaceae e  Rikenellaceae para os machos. Para as mulheres, nem o Filo nem o nível Família revelou diferenças significativas.</p>	<p>Range 0–41  UHDRS–TFC  10.90  Range 6–13</p>	<p>microbioma intestinal alterado em portadores de expansão genética da doença de Huntington. Esses resultados destacam a importância dos biomarcadores intestinais e levantam questões interessantes sobre o papel do intestino na doença de Huntington, e se pode ser um alvo potencial para intervenção terapêutica futura.</p>
--	--	--	-----------------------------------	--	---	--

UHDRS-M: motor section of Unified Huntington's Disease Rating Scale, TMS: total motor score (intervalo: 0–124), TFC: Total Functional Capacity (intervalo: 0–13), Range: variação

### 5.2.1 Descrição detalhada dos estudos caso-controle

O estudo de Du G (2020) <sup>79</sup> foi realizado na China e incluiu 66 participantes (33 pacientes com DH e 33 indivíduos saudáveis, pareados por sexo e idade). Foram analisados e comparados comunidades de microbiota e níveis de citocinas periféricas de pacientes com DH com aqueles de controles saudáveis. Além disso, foram analisadas as relações entre a microbiota fecal e as características clínicas em pacientes com DH. Foi utilizada a pontuação motora total (TMS) da Escala Unificada de HD para avaliação dos pacientes com DH, de modo que o resultado apresentado foi de 35 (TMS mais alto indica sinais motores mais graves). Os autores observaram que a microbiota intestinal estava alterada em pacientes com DH e também correlacionada com características clínicas específicas. Além disso, foi demonstrado que a microbiota fecal estava relacionada a níveis específicos de citocinas, como por exemplo correlação positiva entre *Intestinimonas* e concentrações plasmáticas de IL-4, uma citocina anti-inflamatória, e também que o gênero de bactérias *Bilophila* estava negativamente correlacionado com os níveis pró-inflamatórios de IL-6, sugerindo que o gênero *Bilophila* pode desempenhar um papel anti-inflamatório nas respostas inflamatórias sistêmicas em pacientes em HD.

O estudo de Rosas (2015) <sup>78</sup> foi realizado nos Estados Unidos, com 294 participantes. Foram analisados os perfis metabolômicos plasmáticos de 52 pré-manifestos, 102 sintomáticos precoce e 140 controles saudáveis, para avaliar o impacto das alterações nas vias metabólicas no cérebro na DH e avaliar a presença de biomarcadores para o início e progressão da doença. A conclusão do estudo foi que existem importantes interações entre a DH e o intestino que podem influenciar o início e a progressão da doença, tendo implicações importantes para o tratamento, pois os metabolomas da DH estão altamente ligados à microflora intestinal, sugerindo que a mutação genética da DH favorece uma microbiota intestinal distinta. O mutante entérico *Huntingtin* ou os efeitos sistêmicos da DH no intestino podem influenciar a homeostase energética, o fornecimento de vitaminas e metabólitos e função neuroimune e impacto na expressão clínica da DH.

O estudo de Wasser (2020) <sup>80</sup> foi realizado na Austrália, com 78 participantes, e teve como objetivo caracterizar a microbiota intestinal em pessoas com DH e determinar se a composição da microbiota intestinal está significativamente relacionada a indicadores clínicos de progressão da doença. Foram comparados 42

portadores de expansão do gene da doença de Huntington, incluindo 19 pessoas que foram diagnosticadas com a doença (capacidade funcional total (TFC) > 6), e 23 na fase pré-manifesta, com 36 indivíduos saudáveis, pareados por idade e sexo. Foram utilizados os componentes Pontuação motora total (TMS) e capacidade funcional total (TFC) do UHDRS para caracterizar a gravidade dos sinais motores e o estágio da doença. O UHDRS–TMS foi de 9,21 (TMS mais alto indica sinais motores mais graves) e o UHDRS–TFC de 10,90 (pontuações mais altas indicam melhor funcionamento e maior independência). Os participantes foram caracterizados clinicamente usando uma bateria de testes cognitivos e usando os resultados do sequenciamento das regiões V3-V4 do gene 16S rRNA de amostras fecais para caracterizar a microbiota intestinal. No geral, as descobertas demonstraram uma microbiota intestinal alterada em portadores de expansão genética da doença de Huntington. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os diagnosticados com DH e os na fase pré-manifesta.

### 5.2.2 Descrição detalhada dos estudos realizados com animais

O estudo de Kong (2020)<sup>87</sup> foi realizado na Austrália e utilizou o sequenciamento do gene 16S rRNA para caracterizar a microbiota intestinal no modelo de camundongo transgênico R6/1 com DH em relação aos controles de tipo selvagem da mesma ninhada. Foi relatado que houve diferença significativa na composição da microbiota em camundongos DH. A disbiose intestinal observada coincidiu com prejuízo no ganho de peso corporal, apesar da maior ingestão alimentar, bem como déficits motores. Para os camundongos WT machos, o filo mais abundante foi Firmicutes (76,8%), seguido por Bacteroidetes (22,3%), Proteobacteria (0,4%) e os demais filios de baixa abundância; já para camundongos machos com DH, Bacteroidetes (62,5%) foi o filo mais abundante, seguido por Firmicutes (36,1%), Actinobacteria (0,7%), Proteobacteria (0,6%) e os demais filios. Semelhante aos camundongos WT machos, o filo mais abundante em camundongos WT fêmeas foi Firmicutes (58,2%), seguido por Bacteroidetes (39,8%), Actinobacteria (1,3%), Proteobacteria (0,7%) e outros filios de baixa abundância. E nos Camundongos fêmeas com DH, Bacteroidetes (61,6%) foi o filo mais abundante, seguido por Firmicutes (34,7%), Actinobacteria (2,9%), Proteobacteria (0,7%) e os demais filios.

O estudo de Kong (2021) <sup>83</sup> foi realizado na Austrália e foi investigada a composição da microbiota intestinal no modelo de camundongo transgênico para DH, R6/1, de quatro a 12 semanas de idade. Foram demonstrados potenciais efeitos precoces da mutação DH no intestino. Além da disbiose intestinal em camundongos R6/1 com 12 semanas de idade, a função da microbiota intestinal foi perturbada. Em particular, a via do metabolismo do butanoato foi elevada, sugerindo aumento da produção do ácido graxo de cadeia curta butirato no intestino. Foi revelada instabilidade da microbiota intestinal na DH durante a fase sintomática pré-motora da doença, o que pode ter consequências desastrosas para a saúde do hospedeiro. A perturbação da função da microbiota intestinal na DH antes da disfunção cognitiva e motora significativa sugere o papel potencial do intestino na modulação da patogênese da DH, potencialmente através de metabólitos plasmáticos específicos alterados que medeiam a sinalização intestino-cérebro.

O estudo de Radulescu, (2020) <sup>81</sup> foi realizado em Singapura e o objetivo foi investigar o impacto da microbiota intestinal nos fenótipos de substância branca relacionados à DH do modelo de camundongo BACHD e até que ponto o status da microbiota poderia modular a mielinização e a expressão de genes relacionados à mielina. Camundongos livres de patógenos específicos (SPF) e livres de germes (GF), com três meses de idade, de sexo e genótipo mistos (tipo selvagem e BACHD), foram usados. Achados preliminares revelaram alterações no peso corporal nos animais GF BACHD em relação aos animais SPF BACHD, bem como redução no peso cerebral nos grupos GF, tanto no WT quanto no BACHD, em comparação aos grupos SPF. A análise de imagens de microscopia eletrônica de transmissão do corpo caloso, quantificando a espessura das bainhas de mielina, sugere alterações no diâmetro axonal e na espessura da mielina, particularmente evidente no grupo GF BACHD. O estudo revelou pequenas mudanças em bactérias comensais de BACHD em comparação com controles WT. Não houve grandes mudanças globais na comunidade bacteriana, e a análise adicional de bactérias comensais no nível de família e gênero revelou apenas pequenas diferenças entre os camundongos BACHD e WT, em que camundongos BACHD de três e seis meses de idade mostraram diminuição da abundância de *Prevotella* e *Bacteroides* no nível de gênero, parte do filo *Bacteroidetes*.

O estudo de Stan (2020) <sup>82</sup> foi realizado na Suécia e investigou se há evidências de um aumento de permeabilidade intestinal e disbiose no modelo de

camundongo R6/2 de DH. Os dados demonstram que a diminuição do peso corporal e do comprimento corporal em camundongos R6/2 é acompanhada por uma diminuição significativa no comprimento do cólon e aumento da permeabilidade intestinal em comparação com os irmãos de ninhada do tipo selvagem. Além disso, foi encontrada uma microbiota intestinal alterada em camundongos R6/2, com abundância relativa aumentada de Bacteroidetes e diminuição de Firmicutes, indicando aumento da permeabilidade intestinal e disbiose nesses animais. Neste estudo foram demonstradas associações claras de diversas bactérias para o grupo de camundongos com DH, incluindo Bacteroides, Parabacteroides, Lactobacillus, Coprobacillus e as Enterobacteriaceae.

O estudo de Gubert (2022) <sup>84</sup> foi realizado na Austrália e expos os camundongos a um protocolo de enriquecimento ambiental (EE) e exercício (EX) e caracterizou a estrutura e a função do intestino, bem como o perfil do microbioma intestinal destes camundongos. A assinatura do microbioma intestinal discriminando o efeito da EE na DH (homens: Lachnospirales/Bacteroidales e mulheres: Deferribacterales/ Peptostreptococcales-Tissierellales) envolve a ordem Lachnospirales, que é um anaeróbico, fermentativo e relacionado à produção de metabólitos benéficos para o hospedeiro. A ordem Bacteroidales está associada a comunidades microbianas associadas a hospedeiros e a membros ligados ao ambiente saudável do microbioma intestinal. Membros da ordem Deferribacterales são preferencialmente anaeróbios, fermentativos e estão intimamente associados à inflamação intestinal, com achados indicando que eles podem ser patobiontes (micróbios residentes potencialmente patogênicos), mas também protetora em um modelo de colite. A assinatura do microbioma intestinal discriminando o efeito do EX na DH (machos: Gastranaerophilales/Oscillospirales e fêmeas: Lachnospirales/Bacteroidales) consistem na ordem Gastranaerophilales, que está envolvida na conversão de carboidratos em lactato, etanol e formato e junto com Lachnospirales, Oscillospirales e Peptostreptococcales-Tissierellales fazem parte do classe Clostridia, que são bactérias comensais envolvidos na manutenção da homeostase e função intestinal geral (Lopetuso et al., 2013). Coletivamente, esta análise revelou que a assinatura do microbioma intestinal que diferencia as condições de habitação varia entre o sexo e o genótipo e revelou moduladores promissores e alvos candidatos para ambimética, para EE e EX. Os resultados sugerem que a microbiota intestinal tem um papel promissor na mediação dos efeitos das exposições EE e EX. E foi identificada

as ordens específicas, nomeadamente Bacteroidales, Lachnospirales e Oscillospirales, como as principais assinaturas bacterianas que discriminam as condições de habitação.

O estudo de Gubert (2022) <sup>85</sup> foi realizado na Austrália e investigou se o transplante de microbiota fecal (FMT) de camundongos de tipo selvagem (WT) para camundongos com doença de Huntington teria efeito terapêutico e demonstrou que o FMT nesse caso, modula positivamente os resultados cognitivos, particularmente em fêmeas. Em camundongos machos com doença de Huntington, foi revelado uma ineficiência do enxerto de FMT, que é potencialmente devido às mudanças mais pronunciadas na estrutura, composição e instabilidade da comunidade microbiana intestinal e ao desequilíbrio nos perfis imunológicos do acetato e do intestino encontrados nesses camundongos. Este estudo demonstra que modulação do microbioma intestinal pode atuar na melhora dos déficits cognitivos modelando a demência na doença de Huntington, abrindo caminho para o desenvolvimento de futuras abordagens terapêuticas, incluindo FMT e outras formas de modulação do microbioma intestinal, como possíveis intervenções clínicas para a doença de Huntington.

### 5.3 COMPOSIÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL EM INDIVÍDUOS COM DH

Dos estudos incluídos, sete avaliaram com mais detalhes a composição da microbiota intestinal em indivíduos/animais com DH <sup>7,73,79–83</sup>. Os micro-organismos encontrados são descritos no Quadro 2.

QUADRO 3 - CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS AVALIANDO A MICROBIOTA INTESTINAL EM INDIVÍDUOS/ANIMAIS COM DH

<b>Autor, ano</b>	<b>N</b>	<b>Método usado para avaliar a microbiota</b>	<b>Composição da microbiota</b>
Du G, 2020	66 pacientes (33 saudáveis e 33 com DH)	Sequenciamento do gene 16S rRNA	Actinobacteria no nível do filo; Deltaproteobactérias e Actinobactérias em o nível de classe; Desulfovibrionales no nível de ordem; Oxalobacteraceae, Lactobacillaceae e Desulfovibrionaceae em o nível familiar; e Intestinimonas, Bilophila, Lactobacillus, Oscillibacter, Gemmiger e Dialister no nível de gênero
Kong, 2020	35 camundongos (18 com DH e 17 WT)	Distância de Bray-Curtis e Sequenciamento do gene 16S rRNA	Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobactérias, Cianobactérias, Deferribacteres e Tenericutes



Kong, 2021	Grupos de camundongos com DH e WT	Sequenciamento <i>shotgun</i> e análise metagenômica	Bacteroidetes, Firmicutes Proteobacteria, Actinobacteria e Verrucomicrobia
Radulescu, 2020	Grupos de camundongos BACHD e WT	Distância de Bray-Curtis e Sequenciamento do gene 16S rRNA	Bacteroidetes, Firmicutes, Tenericutes, Proteobacteria, TM7 e outras bactérias raras, como Cyanobacteria, Actinobacteria e Deferribacteres
Stan, 2020	Grupos de camundongos com DH e WT	Sequenciamento do gene 16S rRNA	Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Parabacteroides, Lactobacillus, Coprobacillus e as Enterobacteriaceae
Wasser, 2020	78 pacientes (42 com DH e 36 saudáveis)	Sequenciamento do gene 16S rRNA	Especificamente, para os homens, no nível do Filo, Euryarchaeota, Firmicutes e Verrucomicrobia diferiram significativamente entre os grupos. No nível da Família, muitas Famílias diferiram significativamente por gênero entre os grupos, incluindo Acidaminococcaceae, Akkermansiaceae, Bacteroidaceae, Bifidobacteriaceae, Christensenellaceae, Clostridiaceae, Coriobacteriaceae, Eggerthellaceae, Enterobacteriaceae, Erysipelotrichaceae, Flavobacteriaceae, Lachnospiraceae, Metanobacteriaceae, Peptococcaceae, Peptostreptococcaceae e Rikenellaceae para os machos. Para as mulheres, nem o Filo nem o nível Família revelou diferenças significativas.

BACHD: *Bacterial artificial chromosome Huntington disease model*, DH: Doença de Huntington, RNA: ácido ribonucleico, TM7: Saccharibacteria, WT: *Wild-type*.

#### 5.4 ANÁLISE DA QUALIDADE METODOLÓGICA

Para os estudos do tipo caso-controle, a pontuação média da NOS foi de 7 (variando de 6 a 8), ou seja, os estudos caso-controle incluídos na presente revisão sistemática apresentam qualidade metodológica moderada a alta. A avaliação completa dos estudos é apresentada no APÊNDICE 2.

A avaliação dos resultados da ferramenta SYRCLE's demonstrou o seguinte: para o viés de performance, no item referente ao alojamento aleatório, todos os artigos apresentaram resposta sim, indicando baixo risco de viés; quanto ao domínio de cegamento de profissionais, todos os estudos apresentaram resposta não clara; no viés de detecção, no item referente à aleatoriedade na seleção dos animais para avaliação dos resultados, três apresentaram resposta não clara e três apresentaram resposta sim, indicando baixo risco de viés; no domínio de cegamento dos avaliadores de desfecho, quatro estudos demonstraram resultado não claro e dois apresentaram resposta sim. Para o viés de atrito, no item relativo aos desfechos incompletos, a



resposta para todos os artigos foi sim, indicando baixo risco de viés. Quanto ao viés de relato, no item referente ao relato de desfecho seletivo, todos os artigos apresentaram sim como resposta, indicando baixo risco de viés para este domínio; por fim, para o domínio referente a outras fontes de viés, todos os artigos apresentaram resposta sim, indicando baixo risco de viés. Os resultados completos da avaliação do risco de viés dos estudos com animais estão apresentados no APÊNDICE 3.

## 6 DISCUSSÃO

Este estudo possibilitou sintetizar as evidências disponíveis a respeito da influência da microbiota intestinal em indivíduos com DH. Foram incluídos 10 artigos, entre os quais três estudos caso-controle de qualidade moderada a alta, seis estudos realizados em animais, com risco de viés baixo para a maioria dos domínios e risco incerto para o item referente ao cegamento dos investigadores, bem como para o domínio de viés de detecção, e um ensaio clínico randomizado, publicado na forma de resumo. Dos 10 estudos incluídos, sete avaliaram com mais detalhes a composição da microbiota intestinal em indivíduos/animais com DH.

Os dados sintetizados por meio da presente revisão sistemática demonstraram que existe de fato disbiose intestinal em indivíduos/animais com DH. Ademais, tanto em pacientes saudáveis quanto nos pacientes com DH, os dois filos dominantes são Bacteroidetes e Firmicutes.

Em 2022 Sheng et al.<sup>88</sup> conduziram um estudo que revelou que o filo Bacteroidetes estava aumentado e o filo Firmicutes estava diminuído em pacientes com Doença de Alzheimer. Alguns estudos<sup>7,82</sup> incluídos nesta pesquisa apontaram para resultados similares aos de Sheng et al.<sup>88</sup>, demonstrando maior abundância relativa de Bacteroidetes (Gram –) e menor abundância relativa de Firmicutes (Gram+) em camundongos com DH. Já o estudo de Radulescu (2020)<sup>81</sup>, ao comparar camundongos com DH de três meses de idade com animais WT, demonstrou que a abundância relativa no nível do filo revelou uma diminuição em Bacteroidetes e aumento em Firmicutes; porém, aos seis meses de idade, foi observado o efeito oposto, com aumento dos Bacteroidetes e diminuição dos níveis de Firmicutes. O estudo de Kong (2021)<sup>83</sup>, por sua vez, que avaliou a composição da microbiota intestinal no modelo de camundongo com DH de quatro a 12 semanas de idade, não revelou diferença em nenhum dos filos ao comparar os grupos. O estudo de Wasser (2020)<sup>80</sup> também não demonstrou aumento de Bacteroidetes e diminuição proporcional em Firmicutes. O estudo de Du G (2020)<sup>79</sup> não informou em relação a este tópico.<sup>73</sup>

O estudo de Wasser (2020)<sup>80</sup> revelou significativamente menor abundância de Firmicutes, Lachnospiraceae e Akkermansiaceae em machos com DH, o que é interessante uma vez que se relacionam com processos inflamatórios, dado o papel

de Akkermansiaceae na manutenção da barreira intestinal e o papel das Lachnospiraceae e Firmicutes na produção de ácido butírico, reduzindo a inflamação. Este resultado está alinhado com o estudo de Gevers D (2014)<sup>89</sup>, que reportou diminuição de Lachnospiraceae na doença de Crohn, e também com o estudo de Lupo G (2021)<sup>90</sup> que relatou uma redução em Lachnospiraceae e aumentos em Bacteroides em pacientes com Síndrome da Fadiga Crônica/Encefalomielite Miálgica (CFS/ME), uma doença multissistêmica grave caracterizada por anormalidades imunológicas e disfunção do metabolismo energético.

Os estudos de Radulecu (2020) e Kong (2020)<sup>7,81</sup> utilizaram a distância de Bray-Curtis e o sequenciamento do gene 16S rRNA para avaliar a composição da microbiota intestinal. A distância de Bray-Curtis é utilizada para avaliar a dissimilaridade entre duas amostras dadas, em termos da abundância de táxons (filos, espécies, *Operational Taxonomic Units* (OTUs) etc.) presente em cada uma das amostras<sup>91</sup>. Já o sequenciamento do gene 16S rRNA é um método de sequenciamento baseado em amplicon que tem como alvo o marcador genético específico do gene 16s rRNA de bactérias, usando um único amplicon focado em um único gene, e é um dos métodos mais utilizados para análises de microbiota intestinal, pois o gene ribossomal 16S, presente em bactérias e arqueias, apresenta regiões extremamente conservadas e regiões variáveis, que diferem em todos os níveis taxonômicos. Estas regiões variáveis são importantes marcadores filogenéticos para estudos de microbiota intestinal<sup>92</sup>.

O estudo de Stan (2020), Du G (2020) e Wasser (2020)<sup>79,80,82</sup> também utilizaram o método de sequenciamento do gene 16S rRNA. Já o estudo de Kong (2021) utilizou o método de sequenciamento *shotgun* e análise metagenômica, que é uma abordagem de sequenciamento que possibilita uma análise do material genético de todos os micro-organismos presentes em uma determinada amostra como fezes, líquido cefalorraquidiano, sangue, sem a necessidade de cultivo<sup>93</sup>.

O estudo de Rosas (2015)<sup>86</sup> avaliou o impacto das alterações nas vias metabólicas no cérebro na DH e a presença de biomarcadores para o início e progressão da doença e concluiu que os metabolomas da DH estão altamente ligados à microflora intestinal, sugerindo que a mutação genética da DH favorece uma microbiota intestinal distinta. Os autores demonstraram, ainda, que existem importantes interações entre a DH e o intestino que podem influenciar o início e a progressão da doença, tendo implicações importantes para o tratamento. Esses

resultados estão alinhados com os de Cattaneo et al. (2017) <sup>94</sup>, que realizaram um estudo clínico em humanos avaliando a possível associação entre a amiloidose cerebral e a composição do microbiota intestinal, estudando a atividade pro- e anti-inflamatória e a inflamação periférica em pacientes apresentando alterações cognitivas. Foram recolhidas amostras de fezes para avaliar a diversidade da microbiota e amostras de sangue para avaliar a expressão de citocinas pro e anti-inflamatórias em três grupos de estudo: um grupo composto por pacientes com alterações cognitivas apresentando amiloidose, outro grupo composto por indivíduos com alterações cognitivas, mas não apresentando amiloidose, e um grupo controle em que os indivíduos não apresentavam nem alterações cognitivas nem amiloidose. Os resultados obtidos demonstraram que o aumento dos grupos taxonômicos microbianos com atividade pro-inflamatória, como os gêneros *Escherichia/Shigella*, e a redução na abundância de espécies com características anti-inflamatórias, como a *Eubacterium rectale*, podem estar relacionados com o estado inflamatório periférico apresentado pelos pacientes com alterações cognitivas e amiloidose cerebral, sugerindo que as alterações da composição do microbiota podem induzir a neurodegeneração e a perda cognitiva <sup>89</sup>.

Não foi possível avaliar a influência da composição da microbiota intestinal sobre a evolução da DH, pois os artigos não trouxeram informações detalhadas referentes a este tópico.

Este estudo apresenta algumas limitações relevantes que devem ser levadas em consideração. Em primeiro lugar, a baixa quantidade de artigos relacionados ao tema da pesquisa, possivelmente por se tratar de uma doença rara e especificamente um tópico que ainda foi pouco avaliado. Em segundo lugar, a falta de comparabilidade entre os estudos, o que impediu a realização de análises estatísticas para sintetizar os dados. E em terceiro lugar, o fato de que os estudos incluídos não reportaram dados numéricos suficientes para análises e discussões mais aprofundadas.

## 7 CONCLUSÃO

As características da microbiota intestinal podem interferir na função cerebral e, dado os resultados obtidos, percebe-se que a composição da microbiota intestinal frequentemente é alterada em pacientes com DH.

Não foi possível avaliar a influência da composição da microbiota intestinal sobre a evolução da DH, pois os artigos não trouxeram informações referentes a este tópico. Portanto, é necessário que sejam conduzidos estudos avaliando esta influência.

De acordo com os resultados sumarizados na presente revisão sistemática, os micro-organismos mais prevalentes na microbiota intestinal dos animais com DH são Bacteroidetes, Firmicutes, Actinobacteria, Proteobactérias, Cianobactérias, Deferribacteres e Tenericutes. Já os micro-organismos mais prevalentes na microbiota intestinal dos pacientes com DH são Bacteroidetes, Firmicutes, Tenericutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Cianobactérias, Deferribacteres, Lactobacillus e Verrucomicrobia.

Esses achados demonstram que o intestino é um importante alvo terapêutico, podendo retardar o início da doença, facilitar o diagnóstico e trazer opções de tratamento. Portanto, novos estudos sobre este tópico podem trazer mais evidências acerca dos potenciais benefícios da modulação da microbiota intestinal para os portadores da DH.

## REFERÊNCIAS

1. Tortelli R, Rodrigues FB, Wild EJ. The use of wearable/portable digital sensors in Huntington's disease: A systematic review. *Parkinsonism Relat Disord* [Internet]. fevereiro de 2021;83(January):93–104. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.parkreldis.2021.01.006>
2. Riccò M, Vezzosi L, Balzarini F, Gualerzi G, Ranzieri S. Prevalence of huntington disease in Italy: A systematic review and meta-analysis. *Acta Biomedica*. 2020;91:119–27.
3. Chen S, Liang T, Xue T, Xue S, Xue Q. Pridopidine for the Improvement of Motor Function in Patients With Huntington's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Front Neurol* [Internet]. 13 de maio de 2021;12(May):1–11. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fneur.2021.658123/full>
4. Dash D, Mestre TA. Therapeutic Update on Huntington's Disease: Symptomatic Treatments and Emerging Disease-Modifying Therapies. *Neurotherapeutics* [Internet]. 23 de outubro de 2020;17(4):1645–59. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s13311-020-00891-w>
5. Carabotti M, Scirocco A, Antonietta Maselli M, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. 2015 [citado 25 de maio de 2022];28:203–9. Disponível em: [www.annalsgastro.gr](http://www.annalsgastro.gr)
6. Dinan TG, Cryan JF. Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration. *J Physiol* [Internet]. 15 de janeiro de 2017;595(2):489–503. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1113/JP273106>
7. Kong G, Cao KAL, Judd LM, Li S, Renoir T, Hannan AJ. Microbiome profiling reveals gut dysbiosis in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Neurobiol Dis* [Internet]. 1º de fevereiro de 2020;135:104268. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0969996118305333>
8. Gubert C, Kong G, Renoir T, Hannan AJ. Exercise, diet and stress as modulators of gut microbiota: Implications for neurodegenerative

- diseases. *Neurobiol Dis* [Internet]. fevereiro de 2020;134(April 2019):104621. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104621>
9. Roos RA. Huntington's disease: a clinical review. *Orphanet J Rare Dis* [Internet]. 20 de dezembro de 2010;5(1):40. Disponível em: <https://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-5-40>
  10. Adam OR, Jankovic J. Symptomatic Treatment of Huntington Disease [Internet]. [citado 21 de março de 2022]. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5084162/pdf/13311\\_2011\\_Article\\_50200181.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5084162/pdf/13311_2011_Article_50200181.pdf)
  11. Nopoulos PC. Huntington disease: a single-gene degenerative disorder of the striatum. *Dialogues Clin Neurosci* [Internet]. março de 2016;18(1):91–8. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27069383/>
  12. Ajitkumar A DJO. Huntington Disease. 2022 [citado 25 de fevereiro de 2023]; Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559166>
  13. Ghavami S, Shojaei S, Yeganeh B, Ande SR, Jangamreddy JR, Mehrpour M, et al. Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders. *Prog Neurobiol* [Internet]. janeiro de 2014;112:24–49. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24211851>
  14. Kumar A, Kumar V, Singh K, Kumar S, Kim YS, Lee YM, et al. Therapeutic Advances for Huntington's Disease. *Brain Sci* [Internet]. 12 de janeiro de 2020;10(1):43. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3425/10/1/43>
  15. Ghavami S, Shojaei S, Yeganeh B, Ande SR, Jangamreddy JR, Mehrpour M, et al. Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders. *Prog Neurobiol* [Internet]. janeiro de 2014;112:24–49. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301008213001044>
  16. Illarioshkin SN, Klyushnikov SA, Vigont VA, Seliverstov YA, Kaznachejeva E V. Molecular Pathogenesis in Huntington's Disease. Vol. 83, *Biochemistry (Moscow)*. Pleiades journals; 2018. p. 1030–9.
  17. OMS Organização Mundial da Saúde. [citado 25 de fevereiro de 2023]; Disponível em: <https://www.who.int/pt>
  18. Bono-Yagüe J, Gómez-Escribano AP, Millán JM, Vázquez-Manrique RP. Reactive Species in Huntington Disease: Are They Really the Radicals

- You Want to Catch? Antioxidants [Internet]. 2 de julho de 2020;9(7):577. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/7/577>
19. Walker FO. Huntington's disease. The Lancet [Internet]. janeiro de 2007;369(9557):218–28. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673607601111>
  20. van Duijn E, Kingma EM, van der Mast RC. Psychopathology in Verified Huntington's Disease Gene Carriers. J Neuropsychiatry Clin Neurosci. outubro de 2007;19(4):441–8.
  21. Nicholas Caron HS, Wright GE, Hayden MR. Huntington Disease [Internet]. 1998 [citado 19 de março de 2022]. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1305/pdf/Bookshelf\\_NBK1305.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1305/pdf/Bookshelf_NBK1305.pdf)
  22. -Bahia S, De Matos Pinheiro I, Luiza Azevedo Do Vale A, Santos De Jesus F, Crésio De Aragão ;, Alves D. Análise comparativa da capacidade funcional e cognitiva de idosos em uma unidade de referência geriátrica na cidade de Análise comparativa da capacidade funcional e cognitiva de idosos em uma unidade de referência geriátrica na cidade de Salvador-Bahia. med biol. 2010;(11):163–9.
  23. Azambuja M. Contribuição ao estudo da linguagem em indivíduos com doença de Huntinton. [citado 19 de março de 2023]; Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5160/tde-25052006-091804/publico/MarianaJardimAzambuja.pdf>
  24. Movement Disorder Society. Unified Huntington's Disease Rating Scale: Reliability and-Consistency.
  25. Huntington's disease health-related quality of life questionnaire (HDQoL). University of Reading [Internet]. [citado 19 de março de 2023]; Disponível em: <https://research.reading.ac.uk/neurodegenerative-diseases/hdqol/>
  26. Mendes IC, Martins M. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE VIDA EM PACIENTES COM DOENÇA DE HUNTINGTON E SEUS CUIDADORES.
  27. Chorea Nicholas Caron HS, Wright GE, Hayden MR. Huntington Disease [Internet]. 1998 [citado 22 de março de 2022]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1305/?report=classic>
  28. Jimenez-Sanchez M, Licitra F, Underwood BR, Rubinsztein DC. Huntington's Disease: Mechanisms of Pathogenesis and Therapeutic



- Strategies. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. julho de 2017 [citado 6 de junho de 2022];7(7):a024240. Disponível em: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a024240>
29. Ajitkumar A, De Jesus O. Huntington Disease. 2022.
  30. Schneider SA, Bird T. Huntington's Disease, Huntington's Disease Look-Alikes, and Benign Hereditary Chorea: What's New? Vol. 3, Movement Disorders Clinical Practice. Wiley-Blackwell; 2016. p. 342–54.
  31. Graziani O. Doença de Huntington. O que é preciso saber?
  32. Fernandez HH, Galvez-Jimenez N, Singer C. Comprehensive treatment of Huntington disease and other choreic disorders. *Cleve Clin J Med* [Internet]. julho de 2012;79(7 suppl 2):S30–4. Disponível em: <https://www.ccjm.org//lookup/doi/10.3949/ccjm.79.s2a.06>
  33. Chen JJ, Ondo WG, Dashtipour K, Swope DM. Tetrabenazine for the Treatment of Hyperkinetic Movement Disorders: A Review of the Literature. *Clin Ther*. julho de 2012;34(7):1487–504.
  34. Reetz K, Werner CJ, Schiefer J. Clinical diagnosis and management in early Huntington&#39;s disease: a review. *Degener Neurol Neuromuscul Dis* [Internet]. março de 2015;37. Disponível em: <http://www.dovepress.com/clinical-diagnosis-and-management-in-early-huntington39s-disease-a-rev-peer-reviewed-article-DNND>
  35. Kumar A, Kumar V, Singh K, Kumar S, Kim YS, Lee YM, et al. Therapeutic Advances for Huntington's Disease. *Brain Sci* [Internet]. 12 de janeiro de 2020;10(1):43. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3425/10/1/43>
  36. Kim A, Lalonde K, Truesdell A, Gomes Welter P, Brocardo PS, Rosenstock TR, et al. New Avenues for the Treatment of Huntington's Disease. *Int J Mol Sci* [Internet]. 4 de agosto de 2021;22(16):8363. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/16/8363>
  37. Wyant KJ, Ridder AJ, Dayalu P. Huntington's Disease—Update on Treatments. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 21 de abril de 2017;17(4):33.
  38. Anderson K, Craufurd D, Edmondson MC, Goodman N, Groves M, van Duijn E, et al. An International Survey-based Algorithm for the Pharmacologic Treatment of Obsessive-Compulsive Behaviors in Huntington's Disease. *PLoS Curr*. 20 de setembro de 2011;3:RRN1261.

39. Quinn L, Busse M. Physiotherapy clinical guidelines for Huntington's disease. *Neurodegener Dis Manag*. fevereiro de 2012;2(1):21–31.
40. Almeida C, Oliveira R, Soares R, Barata P. Influence of gut microbiota dysbiosis on brain function: a systematic review. *Porto Biomed J [Internet]*. março de 2020;5(2):1. Disponível em: <https://journals.lww.com/10.1097/j.pbj.0000000000000059>
41. Singh A, Dawson TM, Kulkarni S. Neurodegenerative disorders and gut-brain interactions. *Journal of Clinical Investigation [Internet]*. 1º de julho de 2021;131(13). Disponível em: <https://www.jci.org/articles/view/143775>
42. Lloyd-Price J, Abu-Ali G, Huttenhower C. The healthy human microbiome. *Genome Med [Internet]*. 27 de dezembro de 2016;8(1):51. Disponível em: <http://genomemedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13073-016-0307-y>
43. Jandhyala SM. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol*. 2015;21(29):8787.
44. Person H, Keefer L. Psychological comorbidity in gastrointestinal diseases: Update on the brain-gut-microbiome axis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry [Internet]*. 20 de abril de 2021;107:110209. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S027858462030525X>
45. Fang P, Kazmi SA, Jameson KG, Hsiao EY. The Microbiome as a Modifier of Neurodegenerative Disease Risk. *Cell Host Microbe [Internet]*. 12 de agosto de 2020;28(2):201–22. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1931312820303498>
46. Kundu P, Blacher E, Elinav E, Pettersson S. Our Gut Microbiome: The Evolving Inner Self. *Cell*. dezembro de 2017;171(7):1481–93.
47. Sherwin E, Dinan TG, Cryan JF. Recent developments in understanding the role of the gut microbiota in brain health and disease. *Ann N Y Acad Sci*. maio de 2018;1420(1):5–25.
48. Diniz Pinto Coelho G, Fernandes Arial Ayres L, Sezilio Barreto D, David Henriques B, Rúbia Maciel Cardoso Prado M, Mendes Dos Passos C. Acquisition of microbiota according to the type of birth: an integrative review. Disponível em: [www.eerp.usp.br/rlae](http://www.eerp.usp.br/rlae)

49. Caldeira L de F, Borba HH, Tonin FS, Wiens A, Fernandez-Llimos F, Pontarolo R. Fecal microbiota transplantation in inflammatory bowel disease patients: A systematic review and meta-analysis. Singh UP, organizador. PLoS One [Internet]. 18 de setembro de 2020;15(9):e0238910. Disponível em: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0238910>
50. Baldi S, Mundula T, Nannini G, Amedei A. Microbiota shaping — the effects of probiotics, prebiotics, and fecal microbiota transplant on cognitive functions: A systematic review. World J Gastroenterol [Internet]. 21 de outubro de 2021;27(39):6715–32. Disponível em: <https://www.wjgnet.com/1007-9327/full/v27/i39/6715.htm>
51. Barbosa RSD, Vieira-Coelho MA. Probiotics and prebiotics: focus on psychiatric disorders – a systematic review. Nutr Rev [Internet]. 1º de junho de 2020;78(6):437–50. Disponível em: <https://academic.oup.com/nutritionreviews/article/78/6/437/5643897>
52. Białecka-Dębek A, Granda D, Szmidt MK, Zielińska D. Gut Microbiota, Probiotic Interventions, and Cognitive Function in the Elderly: A Review of Current Knowledge. Nutrients [Internet]. 23 de julho de 2021;13(8):2514. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/8/2514>
53. Caputi V, Giron M. Microbiome-Gut-Brain Axis and Toll-Like Receptors in Parkinson's Disease. Int J Mol Sci [Internet]. 6 de junho de 2018;19(6):1689. Disponível em: <http://www.mdpi.com/1422-0067/19/6/1689>
54. de J.R. De-Paula V, Forlenza AS, Forlenza O V. Relevance of gutmicrobiota in cognition, behaviour and Alzheimer's disease. Pharmacol Res [Internet]. 1º de outubro de 2018;136:29–34. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661817314755>
55. Cheng LH, Liu YW, Wu CC, Wang S, Tsai YC. Psychobiotics in mental health, neurodegenerative and neurodevelopmental disorders. J Food Drug Anal [Internet]. 1º de julho de 2019;27(3):632–48. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1021949819300158>
56. Haoyue Deng XD, MC, ZZ. Efficacy of probiotics on cognition, and biomarkers of inflammation and oxidative stress in adults with Alzheimer's

- disease or mild cognitive impairment — a meta-analysis of randomized controlled trials. *AGING* . 2020;12.
57. Akobeng AK. Principles of evidence based medicine. *Arch Dis Child* [Internet]. 1º de agosto de 2005;90(8):837–40. Disponível em: <https://adc.bmj.com/lookup/doi/10.1136/adc.2005.071761>
  58. Ministério da Saúde. DIRETRIZES METODOLÓGICAS ELABORAÇÃO DE DIRETRIZES CLÍNICAS 2ª EDIÇÃO REVISTA, AMPLIADA E ATUALIZADA BRASÍLIA-DF 2020 MINISTÉRIO DA SAÚDE [Internet]. Disponível em: <http://editora.saude.gov.br>
  59. Ministério da Saúde. DIRETRIZES METODOLÓGICAS Sistema GRADE-manual de graduação da qualidade da evidência e força de recomendação para tomada de decisão em saúde [Internet]. 2014 [citado 1º de fevereiro de 2023]. Disponível em: [https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes\\_metodologicas\\_sistema\\_grade.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_metodologicas_sistema_grade.pdf)
  60. comissão\_nacional\_incorporacao\_tecnologias\_sus\_conitec. [citado 1º de fevereiro de 2023]; Disponível em: [https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/comissao\\_nacional\\_incorporacao\\_tecnologias\\_sus\\_conitec.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/comissao_nacional_incorporacao_tecnologias_sus_conitec.pdf)
  61. Oscar Campana Á. Metodologia da investigação científica aplicada à área biomédica-2. *Investigações na área médica*. Vol. 25, *J Pneumol*.
  62. Fernanda Lima-Costa M, Maria Barreto S, Revisão D. Types of Epidemiologic Studies: Basic Concepts and Uses in the Area of Aging Tipos de estudos epidemiológicos: conceitos básicos e aplicações na área do envelhecimento 189 ARTIGO. Vol. 12, *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2003.
  63. Costa D, Silva L, Coertjens M. Mecanismos e Funções da Proteína S100B Durante a Hipóxia: Uma Revisão de Literatura. *Revista Neurociências* [Internet]. 15 de outubro de 2013;21(03):408–19. Disponível em: <https://periodicos.unifesp.br/index.php/neurociencias/article/view/8167>
  64. De M, De Estudo T, De FN, Romanowski A, Boaventura De Castro M, Neris NW. CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA, EXTENSÃO E AÇÃO

COMUNITÁRIA PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA.

65. Oliveira MVGSR. Entendendo a pesquisa clínica V: relatos e séries de casos.
66. Bonita R, Beaglehole R, Kjellström T. Epidemiologia Básica 2 a edição.
67. Aurélio MVGSR. Entendendo a pesquisa clínica IV: estudos de caso controle.
68. Brazil. Departamento de Ciência e Tecnologia em Saúde. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados. 92 p.
69. Saúde M DA. Brasília-DF 2020 DIRETRIZES METODOLÓGICAS: ELABORAÇÃO DE REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE DE ENSAIOS CLÍNICOS RANDOMIZADOS [Internet]. Disponível em: [www.saude.gov.br](http://www.saude.gov.br)
70. AROMATARIS E; MZ. JBI Manual for Evidence Synthesis. . [citado 28 de setembro de 2022]; Disponível em: <https://synthesismanual.jbi.global>
71. Joanna Briggs Institute . [citado 26 de fevereiro de 2023]; Disponível em: <https://jbi-global-wiki.refined.site/>
72. PAGE MJ et al. PRISMA. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. BMJ 372, 2021.).
73. Poster Presentations. Neurogastroenterology & Motility [Internet]. março de 2020;32(S1). Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/nmo.13817>
74. Huntington Study Group Abstracts 2020. Neurotherapeutics [Internet]. 20 de dezembro de 2020;17(S1):1–41. Disponível em: <https://link.springer.com/10.1007/s13311-020-00945-z>
75. Ren Z, Yuan J, Luo Y, Wang J, Li Y. Association of air pollution and fine particulate matter (PM2.5) exposure with gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. Ann Transl Med. janeiro de 2023;11(1):23–23.
76. Hooijmans CR, Rovers MM, de Vries RB, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. BMC Med Res Methodol [Internet]. 26 de dezembro de 2014;14(1):43. Disponível em:

<https://bmcmedresmethodol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2288-14-43>

77. Hooijmans CR, Rovers MM, De Vries RBM, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol*. 26 de março de 2014;14(1).
78. Rosas HD, Doros G, Bhasin S, Thomas B, Gevorkian S, Malarick K, et al. A systems-level "misunderstanding": the plasma metabolome in Huntington's disease. *Ann Clin Transl Neurol*. 1º de julho de 2015;2(7):756–68.
79. Du G, Dong W, Yang Q, Yu X, Ma J, Gu W, et al. Altered Gut Microbiota Related to Inflammatory Responses in Patients With Huntington's Disease. *Front Immunol [Internet]*. 19 de fevereiro de 2020;11:603594. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33679692>
80. Wasser CI, Mercieca EC, Kong G, Hannan AJ, McKeown SJ, Glikmann-Johnston Y, et al. Gut dysbiosis in Huntington's disease: Associations among gut microbiota, cognitive performance and clinical outcomes. *Brain Commun*. 2020;2(2).
81. Radulescu CI, Garcia-Miralles M, Sidik H, Bardile CF, Yusof NABM, Lee HU, et al. Reprint of: Manipulation of microbiota reveals altered callosal myelination and white matter plasticity in a model of Huntington disease. *Neurobiol Dis*. 1º de fevereiro de 2020;135.
82. Stan TL, Soyly-Kucharz R, Burleigh S, Prykhodko O, Cao L, Franke N, et al. Increased intestinal permeability and gut dysbiosis in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. *Sci Rep*. 1º de dezembro de 2020;10(1).
83. Kong G, Ellul S, Narayana VK, Kanojia K, Ha HTT, Li S, et al. An integrated metagenomics and metabolomics approach implicates the microbiota-gut-brain axis in the pathogenesis of Huntington's disease. *Neurobiol Dis*. 1º de janeiro de 2021;148.
84. Gubert C, Love CJ, Kodikara S, Mei Liew JJ, Renoir T, Lê Cao KA, et al. Gene-environment-gut interactions in Huntington's disease mice are associated with environmental modulation of the gut microbiome. *iScience [Internet]*. 21 de janeiro de 2022;25(1):103687. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2589004221016576>

85. Gubert C, Choo JM, Love CJ, Kodikara S, Masson BA, Liew JJM, et al. Faecal microbiota transplant ameliorates gut dysbiosis and cognitive deficits in Huntington's disease mice. *Brain Commun* [Internet]. 4 de julho de 2022;4(4). Disponível em: <https://academic.oup.com/braincomms/article/doi/10.1093/braincomms/fcac205/6661439>
86. Rosas HD, Doros G, Bhasin S, Thomas B, Gevorkian S, Malarick K, et al. A systems-level "misunderstanding": the plasma metabolome in Huntington's disease. *Ann Clin Transl Neurol* [Internet]. 28 de julho de 2015;2(7):756–68. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/acn3.214>
87. Kong G, Cao KAL, Judd LM, Li SS, Renoir T, Hannan AJ. Microbiome profiling reveals gut dysbiosis in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Neurobiol Dis*. 1º de fevereiro de 2020;135.
88. Sheng C, Yang K, He B, Du W, Cai Y, Han Y. Combination of gut microbiota and plasma amyloid- $\beta$  as a potential index for identifying preclinical Alzheimer's disease: a cross-sectional analysis from the SILCODE study. *Alzheimers Res Ther* [Internet]. 14 de dezembro de 2022;14(1):35. Disponível em: <https://alzres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13195-022-00977-x>
89. Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, et al. The treatment-naive microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe* [Internet]. 12 de março de 2014;15(3):382–92. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24629344>
90. Lupo GFD, Rocchetti G, Lucini L, Lorusso L, Manara E, Bertelli M, et al. Potential role of microbiome in Chronic Fatigue Syndrome/Myalgic Encephalomyelitis (CFS/ME). *Sci Rep* [Internet]. 29 de março de 2021;11(1):7043. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-86425-6>
91. Yoshioka PM. Misidentification of the Bray-Curtis similarity index. *Mar Ecol Prog Ser*. 25 de setembro de 2008;368:309–10.
92. Nguyen NP, Warnow T, Pop M, White B. A perspective on 16S rRNA operational taxonomic unit clustering using sequence similarity. *NPJ*

Biofilms Microbiomes [Internet]. 20 de abril de 2016;2(1):16004.  
Disponível em: <https://www.nature.com/articles/npjbiofilms20164>

93. Chiu CY, Miller SA. Clinical metagenomics. Vol. 20, Nature Reviews Genetics. Nature Publishing Group; 2019. p. 341–55.
94. Cattaneo ACNGS. Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly. 2017;



## APÊNDICE 1: ESTRATÉGIAS DE BUSCA

### Estratégia de busca (Pubmed)

**#1** "Huntington Disease"[MeSH Terms] OR "Huntington\*"[All Fields] OR "Chorea"[All Fields]

**#2** ("Gastrointestinal Microbiome"[MeSH Terms] OR ("gut"[All Fields] AND ("microb\*"[All Fields] OR "microflora"[All Fields] OR "flora"[All Fields] OR "bacteria"[All Fields]))) OR ("intestinal"[All Fields] AND ("microb\*"[All Fields] OR "microflora"[All Fields] OR "flora"[All Fields] OR "bacteria"[All Fields])) OR ("gastrointestinal"[All Fields] AND ("microb\*"[All Fields] OR "microflora"[All Fields] OR "flora"[All Fields] OR "bacteria"[All Fields])) OR ("gastric"[All Fields] AND ("microb\*"[All Fields] OR "microflora"[All Fields] OR "flora"[All Fields] OR "bacteria"[All Fields])) OR "Enteric Bacteria"[All Fields] OR "dysbiosis"[MeSH Terms] OR "Dysbioses"[All Fields] OR "Disbiosis"[All Fields] OR "Disbioses"[All Fields] OR "Dys-symbiosis"[All Fields] OR "Dys symbiosis"[All Fields] OR "Dys-symbioses"[All Fields] OR "Dysbacteriosis"[All Fields] OR "Dysbacterioses"[All Fields] OR "Disbacteriosis"[All Fields] OR "Disbacterioses"[All Fields] OR "microbiomic"[All Fields])

**#1 AND #2**

### Estratégia de busca (Scopus)

( TITLE-ABS-KEY ( ( microb\* OR disbios\* OR dysbios\* ) ) ) AND ( TITLE-ABS-KEY ( huntington\* OR chorea ) )

### Estratégia de busca (Web of Science)

TS=((microbi\* OR disbios\* OR dysbios\*) AND (huntington\* OR chorea))

**APÊNDICE 2: ESCALA DE PONTUAÇÃO DE NEWCASTLE-OTTAWA (NOS) PARA OS ESTUDOS DO TIPO CASO-CONTROLE**

Study ID	SELECTION				COMPARABILITY 1. Comparability of Cases and Controls on the Basis of the Design or Analysis	EXPOSURE			NOS total
	1. Is the Case Definition Adequate?	2. Representativeness of the Cases	3. Selection of Controls	4. Definition of Controls		1. Ascertainment of Exposure	2. Same method of ascertainment for cases and controls	3. Non-Response rate	
Du G, 2020	a*	a*	a*	a*	*	a*	a*	a*	8
Rosas, 2015	b	a*	c	b	**	a*	a*	a*	6
Wasser, 2020	a*	a*	c	b	**	a*	a*	a*	7

### APÉNDICE 3: SYRCLE'S ROB TOOL PARA ESTUDIOS REALIZADOS COM ANIMAIS

Study ID	Selection bias		Performance bias		Detection bias		Attrition bias	Reporting bias	Other	
	1) Was the allocation sequence adequately generated and applied?	2) Were the groups similar at baseline or were they adjusted for confounders in the analysis?	3) Was the allocation to the different groups adequately concealed during?	4) Were the animals randomly housed during the experiment?	5) Were the caregivers and/or investigators blinded from knowledge which intervention each animal received during the experiment?	6) Were animals selected at random for outcome assessment?	7) Was the outcome assessor blinded?	8) Were incomplete outcome data adequately addressed? (*)	9) Are reports of the study free of selective outcome reporting? (*)	10) Was the study apparently free of other problems that could result in high risk of bias? (*)
Kong, 2020	NA	NA	NA	Yes	Unclear	Unclear	Unclear	Yes	Yes	Yes
Kong, 2021	NA	NA	NA	Yes	Unclear	Yes	Unclear	Yes	Yes	Yes
Radulescu, 2020	NA	NA	NA	Yes	Unclear	Unclear	Unclear	Yes	Yes	Yes
Stan, 2020	NA	NA	NA	Yes	Unclear	Unclear	Unclear	Yes	Yes	Yes
Gubert, 2022	NA	NA	NA	Yes	Unclear	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Gubert, 2022	NA	NA	NA	Yes	Unclear	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes

## APÉNDICE 4: PRISMA 2020 CHECKLIST

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
<b>TITLE</b>			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	1
<b>ABSTRACT</b>			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	7
<b>INTRODUCTION</b>			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	14
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	14
<b>METHODS</b>			
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	35
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	35
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	65
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	35
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in the process.	36
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	36
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	36
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	36
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.	36
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	N/A
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	N/A
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	N/A
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	N/A
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results (e.g. subgroup analysis, meta-regression).	N/A
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	N/A
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	36-37
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	N/A

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
<b>RESULTS</b>			
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	38
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	38
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	39-47
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	47-48
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	N/A
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	47-48
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect.	N/A
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	N/A
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	N/A
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	N/A
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	N/A
<b>DISCUSSION</b>			
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	49
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	51
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	N/A
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	N/A
<b>OTHER INFORMATION</b>			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	N/A
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	35
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	N/A
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	N/A
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	N/A
Availability of data, code and other materials	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	N/A