

**MICROBIOTA NORMAL INTESTINAL: EFEITOS FISIOLÓGICOS E AÇÃO
IMUNOMODULADORA**

GUT FLORA: PHYSIOLOGICAL EFFECTS AND IMMUNOMODULATION

Flávia Pampolini¹, Sônia Valéria Pinheiro Malheiros²

¹ Bióloga, Universidade Metodista de Piracicaba. cursando Pós-Graduação em Análises Clínicas na Universidade Metodista de Piracicaba- UNIMEP, Piracicaba-SP, Brasil.

² Farmacêutica Bioquímica UNESP – Araraquara, Doutora em Bioquímica, professora Adjunta da Faculdade de Medicina de Jundiaí-SP, professora da Universidade São Francisco, Campinas - SP e Universidade Metodista de Piracicaba- SP – UNIMEP, Piracicaba-SP, Brasil.

Autor Responsável:

Flávia Pampolini - e-mail: flapampo@gmail.com

Palavras-chave: microbiota normal, caráter imunomodulador, trato gastrointestinal

Keywords: normal microflora, immunomodulator character, intestinal tract

RESUMO

O organismo humano está constantemente em contato com micro-organismos presentes no ambiente, alimentos e habitando o próprio corpo humano. Normalmente, essa interação é harmoniosa e a microbiota desempenha funções benéficas, especialmente no trato gastrointestinal onde auxilia na digestão e metabolização de alimentos. O trato intestinal de mamíferos é habitado por milhões de bactérias que compõem a flora normal e desempenham inúmeras funções. O presente trabalho tem como objetivos revisar na literatura a importância, função e efeitos fisiológicos dos micro-organismos que compõem a microbiota normal humana com ênfase na ação imunomoduladora. Dentre as principais funções desses, pode-se destacar: a limitação do crescimento de patógenos através da competição por sítios de adesão e por alimentos; auxílio na digestão e nutrição do hospedeiro além do caráter imunomodulador importante no desenvolvimento do sistema imunológico do hospedeiro. Os principais órgãos linfóides associados à mucosa intestinal são apresentados, bem como as suas funções, como desencadeamento de respostas específicas e estímulo do desenvolvimento de macrófagos e células natural *killer* (NK). A ação de pré e próbióticos na otimização das funções da microbiota normal também são descritas.

ABSTRACT

The human body is constantly in contact with microorganisms in the environment, food and those living inside the body. Usually this interaction is profitable and the commensal microbes perform benefic functions, especially in the gastrointestinal tract where it assists in digestion and metabolism of food. The intestinal tract of mammals is inhabited by millions of bacteria that compose the normal microbiota and perform numerous functions. This study aims to review literature on the importance, function and physiological effects of microorganisms comprising the normal human microbiota with emphasis on the immunomodulatory action. Among their main functions limiting the growth of pathogens through competition for adhesion sites and competition for food, aid in digestion and nutrition and also the immunomodulatory function in the development of the host immune system can be highlighted. The primary lymphoid organs associated with the intestinal mucosa are presented, and the function of the same trigger specific responses and stimulate the development of macrophages and natural killer (NK). The action of pre and probiotics optimizing the functions of normal microbiota are also described.

INTRODUÇÃO

Diariamente, estamos expostos a uma infinidade de micro-organismos que estão presentes no ambiente, tanto em superfícies quanto no solo, na água ou no ar. Muitos deles colonizam a superfície ou o interior do nosso corpo e podem ser classificados em dois grupos (Sekirov et al, 2010): a) microbiota residente: são os micro-organismos que tem capacidade de se reproduzir e sobreviver em nosso organismo, estando sempre presentes em determinadas áreas de nosso corpo e b) microbiota transitória: são aqueles que não tem capacidade de colonizar nosso corpo de forma persistente, permanecendo nele apenas por algumas horas, dias ou semanas (Madigan et al, 2001; Barbosa et al, 2006).

O trato gastrointestinal humano é habitado por uma grande quantidade de micro-organismos que estão distribuídos ao longo deste órgão de forma heterogênea: no estômago e intestino delgado a concentração de bactérias é reduzida devido à ação dos sucos gástrico, pancreático e outras secreções. Por apresentar pH ácido, o suco gástrico age como bactericida e também o intenso peristaltismo do intestino delgado remove mecanicamente as bactérias. Já na região do cólon, há um acúmulo de nutrientes e o peristaltismo é lento, favorecendo assim, a instalação e proliferação de tais bactérias que compõem a microbiota intestinal (Madigan et al, 2004; Brandt et al, 2006).

No intestino a microbiota residente, também conhecida como flora normal, desempenha funções benéficas em seu hospedeiro, como: a) antibactericida, pois forma uma barreira mecânica contra a colonização por outros micro-organismos através da produção de

substâncias com ação antimicrobiana, competição por nutrientes e ocupação dos sítios de adesão da mucosa (Rizzello et al, 2010); b) imunomoduladora, pois a interação da flora normal com o epitélio intestinal de seu hospedeiro estimula continuamente o sistema imune, favorecendo o seu desenvolvimento; c) metabólica-nutricional, pois auxilia na digestão e absorção dos nutrientes, além de sintetizar as vitaminas B12 e K (Madigan et al, 2004; Barbosa et al, 2006; Brandt et al, 2006; Patel e Lin, 2010).

O objetivo deste trabalho é descrever a função imunomoduladora do trato gastrointestinal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste trabalho, foi realizada uma revisão bibliográfica na qual foram consultados os sites científicos (como Scielo e PubMed) e artigos científicos abordando a importância, função e efeitos fisiológicos dos micro-organismos que compõem a microbiota normal humana com ênfase na ação imunomoduladora.

RESULTADOS

Microbiota Normal do Corpo Humano

O corpo humano é colonizado por uma grande diversidade de micro-organismos que compõem a nossa flora normal. Tais micro-organismos são normalmente encontrados nas regiões do corpo que estão em contato com o ambiente, tais como a superfície da pele, cavidade oral, trato respiratório superior, trato gastrointestinal e trato genitourinário (Sekirov et al, 2010). Nesses ambientes, a disponibilidade de nutrientes, temperatura e pH constantes favorecem a instalação e desenvolvimento desta microbiota. Já nos órgãos, sangue, linfa e sistema nervoso, a presença de micro-organismos é indicativa de doença (Pelczar et al, 1996; Madigan et al, 2004; Pinto e Todo-Bom, 2004; Barbosa et al, 2006; Patel e Lin, 2010).

Tais bactérias podem habitar o nosso corpo de forma residente, quando tem capacidade de se reproduzir e sobreviver em nosso organismo, estando sempre presentes em determinadas áreas, neste caso são denominados microbiota residente e compõem nossa flora normal; ou podem ter caráter transitório, quando não tem capacidade de colonizar nosso corpo de forma persistente, permanecendo nele apenas por algumas horas, dias ou semanas, sendo neste caso, denominados microbiota transitória (Barbosa et al, 2006).

O estudo acerca das influências da flora microbiana em nosso organismo é bastante antigo. Em 1885, Louis Pasteur declarou acreditar que os animais não conseguiam se desenvolver na ausência de micro-organismos. Em 1897, ocorreu a primeira tentativa

fracassada de se criar animais livres de germe. Posteriormente, em 1899, na Alemanha, foram criadas galinhas livres de germe, mas que sobreviveram por apenas um mês. Finalmente em 1912, no Instituto Pasteur, foram criados com sucesso, os primeiros animais livres de germe e em 1928, James A. Reyniers e cientistas da Universidade de Notre Dame, USA, desenvolveram equipamentos e técnicas para a criação de pequenos animais durante várias gerações. Tais estudos permitiram comparações entre esses animais e os convencionais da mesma espécie, permitindo estudos dos efeitos fisiológicos dos micro-organismos no desenvolvimento dos animais (Pelczar et al, 1996; Brandt et al, 2006).

Embora estejam associados às doenças, por conta do caráter patogênico de algumas espécies, os micro-organismos formadores da microbiota normal, geralmente não causam danos ao seu hospedeiro e as interações entre eles são no geral comensais e em alguns casos extremamente benéficas (Pelczar, et al, 1996; Brandt et al, 2006; Patel e Lin, 2010). Abaixo, no Quadro 01 estão listados os principais gêneros formadores da flora normal do corpo humano.

Quadro 01 – Gêneros dos micro-organismos representativos da microbiota normal de humanos. Fonte: Madigan, 2004.

Sítio Anatômico	Microrganismo
Pele	<i>Staphylococcus</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Pityrosporum</i> sp. (levedura), <i>Propionibacterium</i> sp., <i>Micrococcus</i> sp.
Boca	<i>Streptococcus</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp., <i>Fusobacterium</i> sp., <i>Veilonella</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Neisseria</i> sp., <i>Actinomyces</i> sp.
Trato respiratório	<i>Streptococcus</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Neisseria</i> sp.
Trato gastrointestinal	<i>Lactobacillus</i> sp., <i>Streptococcus</i> sp., <i>Bacteróides</i> sp., <i>Bifidobacterium</i> sp., <i>Eubacterium</i> sp., <i>Peptococcus</i> sp., <i>Peptostreptococcus</i> sp., <i>Ruminococcus</i> sp., <i>Clostridium</i> sp., <i>Escherichia</i> sp., <i>Klebsiella</i> sp., <i>Proteus</i> sp., <i>Enterococcus</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp.
Trato urogenital	<i>Escherichia</i> sp., <i>Klebsiella</i> sp., <i>Proteus</i> sp., <i>Neisseria</i> sp., <i>Lactobacillus</i> sp. (vagina de mulheres adultas), <i>Corynebacterium</i> sp., <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Candida</i> sp., <i>Prevotella</i> sp., <i>Clostridium</i> sp., <i>Peptostreptococcus</i> sp.

De um modo geral, a flora normal beneficia o hospedeiro, pois impede o crescimento acentuado de micro-organismos patogênicos em consequência da competição por sítios de ligação e nutrientes e também por secretarem substâncias inibitórias para outras espécies de micróbios (Tortora et al, 1996; Rizzello et al, 2011; Sekirov et al, 2011).

Microbiota Normal do Trato Gastrointestinal

O trato gastrointestinal é formado pela boca, orofaringe, esôfago, estômago, intestino delgado e intestino grosso e abriga uma enorme quantidade de micro-organismos, que chega a superar o número de células do próprio hospedeiro (Martins et al, 2005; Fava e Danese, 2011).

Essa massa de micro-organismos, contudo, é composta por apenas alguns gêneros de bactérias anaeróbias como bacteróides, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* e *Ruminococcus* (Guarner e Malagelada, 2003; Patel e Lin, 2010).

Neste órgão, os micro-organismos estão distribuídos de forma heterogênea, pois a região do estômago e intestino delgado são ambientes desfavoráveis para a instalação e desenvolvimento destes, devido à ação do suco gástrico no estômago, que por possuir pH ácido apresenta uma barreira para o desenvolvimento de bactérias e devido ao intenso peristaltismo do intestino delgado, que realiza remoção mecânica das bactérias ali presentes. Dessa forma, praticamente não são encontrados micro-organismos nestas regiões do trato intestinal. Já o intestino grosso, em consequência do pH alcalino, peristaltismo lento e grande disponibilidade de nutrientes, oferece um ambiente favorável para a instalação e proliferação dessa microbiota (Tannock, 1999; Guarner e Malagelada, 2003).

Ao nascer, os indivíduos apresentam trato gastrointestinal estéril, sendo este colonizado logo após o parto por micro-organismos provenientes da mãe, do ambiente e dos alimentos. Nos primeiros dias de vida, o trato gastrointestinal é colonizado por *Escherichia coli*, *Clostridium sp.* e *Streptococcus sp.* e em seguida, com a amamentação, as bifidobactérias e lactobacilos se estabelecem, e finalmente os bacteróides, eubactérias e peptococos (Barbosa et al, 2006). Contudo, esta colonização depende da capacidade das bactérias se aderirem à receptores, denominados sítios de adesão, presentes na mucosa intestinal (Fanaro et al, 2003; Patel e Lin, 2010). Os micro-organismos com tal característica irão compor a microbiota normal do trato intestinal (Brandt et al, 2006).

No indivíduo adulto, a composição da microbiota intestinal é estável, porém até os dois anos de idade ela ainda não está completamente estabelecida e pode ser influenciada por fatores ligados ao hospedeiro, às bactérias e também à fatores externos como o uso de

medicamentos, alimentação, estado nutricional, e condições de higiene/contaminação (Tannock, 1999; Souza e Pereira, 2007). Dentre os fatores relacionados ao hospedeiro, acredita-se que o genótipo influencie na colonização, uma vez que ele determina a quantidade e qualidade dos sítios de adesão que estarão presentes na mucosa (Toivanen et al, 2001). O fato da composição da flora intestinal variar muito entre os indivíduos, com cada um abrigando uma coleção única e que é altamente estável ao longo da vida (Fava e Danese, 2011), reforça esta hipótese de que a colonização seja hospedeiro-específica (Patel e Lin, 2010).

Os fatores relacionados às bactérias estão ligados à sua capacidade em se comunicar com o ambiente e com outras bactérias, num processo conhecido como "quorum sensing". A comunicação é baseada na produção de um sinal molecular por certas espécies, que é liberado para o meio ambiente e se atingir uma via de regulação gênica de uma bactéria receptiva ou do próprio hospedeiro pode ativar ou reprimir um gene (Bourlioux et al, 2003; Brandt et al, 2006).

Há também fatores externos que influenciam na colonização intestinal, como: a) tipo de parto: crianças nascidas de parto normal são colonizadas inicialmente pelas bactérias da flora fecal materna - presentes no canal do parto - e, posteriormente pelas bactérias presentes nos alimentos e no ambiente, ao contrário do que ocorre com bebês nascidos de parto cesáreo, que tem nos seios maternos, nos alimentos e ambiente a fonte primária de micro-organismos (Patel e Lin, 2010). Além disso, nas crianças nascidas de parto normal a estabilização da flora normal intestinal ocorre mais rapidamente, e elas apresentam maior taxa de colonização por lactobacilos e bífidobactérias (Grolund et al, 1999); bebês alimentados com leite materno apresentam predominantemente bifidobacterias em sua flora normal, pois o pH de seu intestino é alcalino e favorece o estabelecimento de tais bactérias. Também ingerem enzimas e imunoglobulinas da mãe junto com o leite materno que impedem o estabelecimento de espécies patogênicas (Harmsen et al, 2000; Kaul et al, 2011).

Efeitos Fisiológicos da Microbiota Intestinal

No trato gastrintestinal, os micro-organismos que compõem a flora normal desempenham muitas funções benéficas para o seu hospedeiro, tais como funções antibacteriana, metabólicas e nutricionais e função imunomoduladora (Brandt et al, 2006); e ao mesmo tempo, dispõem de um habitat estável, com fontes de energia provenientes da alimentação. Dessa forma ocorre uma relação de mutualismo entre hospedeiro e microbiota (Macpherson e Harris, 2004; Patel e Lin, 2010).

Função Antibacteriana

A microbiota normal estabelece uma barreira mecânica contra a colonização de micro-organismos patogênicos, pois ocupam os sítios de adesão da membrana mucosa. Além disso, também competem por alimento e alguns gêneros ainda secretam substâncias inibitórias para outras espécies, dificultando dessa forma, a colonização do trato intestinal por agentes patógenos (Tannock, 1999; Macpherson e Harris, 2004; Rizziello et al, 2011).

Influencia na Digestão e Nutrição

No intestino, as bactérias da flora normal auxiliam na digestão e absorção de nutrientes, uma vez que substâncias que chegam não digeridas no intestino são fermentadas pelas bactérias e transformadas em ácidos para serem, então, absorvidos pela mucosa. Além de ajudar na digestão, a microbiota intestinal pode sintetizar várias vitaminas envolvidas no metabolismo do hospedeiro, como a cobalamina (vitamina B12), o fosfato piridoxal (forma ativa da vitamina B6), ácido pantotênico (vitamina B5), niacina (vitamina B3), biotina, tetrahidrofolato e vitamina K (Kaul et al, 2011).

Uma vez que as bactérias atingem o cólon, elas serão nutridas pelos alimentos ingeridos pelo hospedeiro e que não foram absorvidos (fibras indigeríveis e carboidratos), materiais do próprio hospedeiro (como muco e células mortas) e metabólitos provenientes da atividade enzimática bacteriana, promovendo a quebra desses compostos e conseqüentemente a geração dos produtos finais da fermentação como ácidos graxos de cadeia curta, etanol e gás (Fava e Danese, 2011). A metabolização de carboidratos acarreta a produção de ácidos graxos, principalmente ácido acético, propiônico e butírico, que desempenham efeitos fisiológicos no hospedeiro. Outros efeitos benéficos incluem hidrólises de lipídios, quebra de proteínas (produzindo peptídeos e aminoácidos), e produção de vitaminas (Bourlioux et al, 2003).

Papel Imunomodulador

A interação da flora normal com o epitélio intestinal de seu hospedeiro estimula continuamente o sistema imune, favorecendo o seu desenvolvimento (Patel e Lin, 2010). Dessa forma, o trato gastrointestinal e sua microbiota são considerados importantes para o sistema imunológico, uma vez que causam a expansão dos linfócitos intra-epiteliais, causam aumento dos centros germinativos com células produtoras de imunoglobulina nas Placas de Peyer e aumentam a concentração de imunoglobulinas circulantes (Falk et al, 1998; Benvins e Salzman, 2011). Esta função será abordada posteriormente em um item específico.

Sistema Imunológico

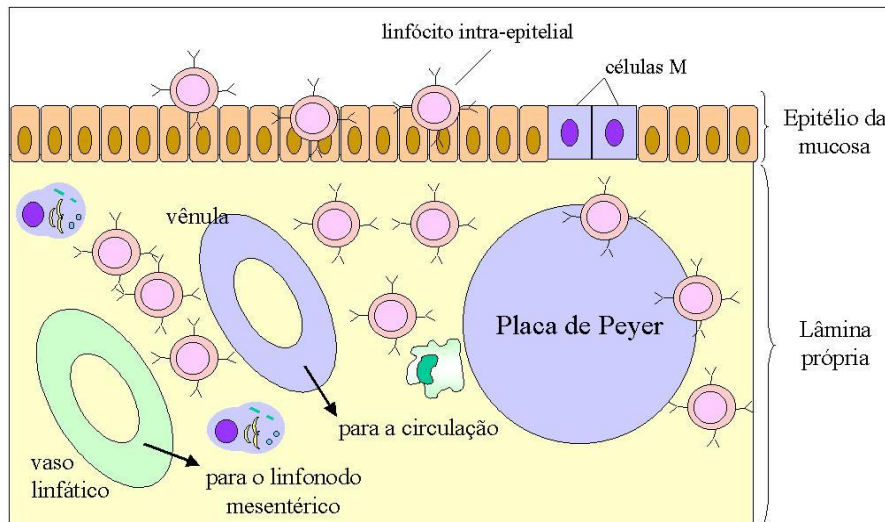
Conforme visto anteriormente, muitos micro-organismos habitam nosso corpo de forma comensal. Porém, se eles se multiplicarem acentuadamente, ou nosso corpo for

invadido por espécies patogênicas, nestes casos, tais antígenos nos causarão danos. Nosso corpo apresenta mecanismos de resistência contra esses antígenos e responde a essa invasão por meio do sistema imunológico (Madigan et al, 2004).

O sistema imune é composto por tecidos e órgãos linfóides classificados em órgãos linfóides primários (centrais) e em órgãos linfóides secundários (periféricos). Os órgãos linfóides primários são os locais de diferenciação dos linfócitos e são formados pelo timo e medula óssea, locais de amadurecimento das células T e B, respectivamente. Os órgãos linfóides secundários são locais de iniciação e desenvolvimento das respostas imunes. Estes órgãos são representados pelos linfonodos, baço, sistema imune cutâneo e sistema imune das mucosas. O baço se encarrega dos antígenos disseminados pelo sangue; já os linfonodos respondem contra antígenos circulantes na linfa. As tonsilas, as placas de Peyer e outros tecidos linfóides associados às mucosas respondem aos antígenos que penetram estas barreiras (Höfling e Gonçalves, 2006).

No trato gastrointestinal, o sistema imune se desenvolveu de forma a evitar uma resposta imune acentuada contra antígenos alimentares, tolerar os microrganismos da flora normal que vivem em simbiose com o seu hospedeiro e, ao mesmo tempo, detectar e matar organismos patogênicos (Janeway et al, 2007).

O tecido linfóide associado à mucosa intestinal é conhecido como GALT (gut associated lymphoid tissue) (Figura 1). De acordo com Bourlioux (2003), pode ser definido como uma massa de tecido linfóide associada com a superfície da mucosa, podendo ser dividida em duas áreas: tecidos linfóides organizados e difusos. Os tecidos linfóides organizados são compostos por Placas de Peyer e linfonodos mesentéricos, cruciais para a amostragem de antígeno e para o reconhecimento específico para induzir respostas imunes. Os tecidos linfóides difusos são compostos de plasmócitos (linfócitos B diferenciados) produtores de IgA e linfócitos T tipo CD4+ (auxiliador ou indutor) e CD8+ (supressor ou citotóxico).



Fonte: Höfling e Gonçalves, 2006

Figura 1. Esquema ilustrativo do tecido linfóide associado à mucosa intestinal (GALT).

Os principais órgãos linfóides associados à mucosa são:

- Placas de Peyer (PP): tecido extremamente organizado e distribuído ao longo do intestino delgado. Formam um centro germinativo de linfócitos B e são fontes de células precursoras, reguladoras e produtoras de IgA. As células precursoras podem migrar, multiplicar, diferenciar e repopular tecidos de outras mucosas. As placas de Peyer abrigam células T do tipo auxiliaadoras, citotóxicas e supressoras, e também células acessórias como macrófagos e células dendríticas (Bueno e Pacheco-Silva, 1999; Hofling e Gonçalves, 2006; Pavert e Mebius, 2010);
- Linfócitos intra epiteliais (IELs): são linfócitos T, predominantemente do fenótipo CD8+ que apresentam moléculas de superfície relacionadas com o homing (processo no qual as células T dirigem-se para o local onde o antígeno é apresentado) (Bueno e Pacheco-Silva, 1999);
- Células Dendríticas (CDs): transportam antígenos processados para os linfonodos, dessa forma são também células apresentadoras de antígenos (CAA) e constituem uma população heterogênea de leucócitos com capacidade imunoestimulatória e exercem importantes papéis na indução das respostas dos linfócitos T aos antígenos. Sua principal função é capturar e transportar os antígenos para drenagem nos linfonodos (Janeway et al, 2007; Garrett et al, 2010);
- Células de Paneth: são células especializadas que secretam lisozimas, fosfolipase, DNAses e tripsina, exercendo atividade antimicrobiana em relação às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Sua libertação para o lúmen intestinal é estimulada pelos micro-organismos ou

moléculas microbianas, como lipopolissacarídeos, *ácido lipoteicóico* e dipeptídeos de mureína. Esta secreção também é conhecida como defensina (Bourlioux et al, 2003; Pamer, 2007; Bevins e Salzman 2011).

O epitélio intestinal é especializado, permitindo o transporte de patógenos para o tecido linfóide. Esta função é desempenhada, particularmente, pelas células epiteliais denominadas M, ou células com microdobras. Tais células contêm invaginações da membrana citoplasmática que formam bolsas contendo linfócitos T e B, células dendríticas e macrófagos. Os antígenos e os micro-organismos são transportados para estas bolsas e para o tecido linfóide organizado das mucosas, sob o epitélio. As células M são ativamente pinocíticas e transportam macromoléculas do lúmen intestinal para os tecidos subepiteliais. São importantes na liberação de antígenos às placas de Peyer, porém não funcionam como apresentadoras de antígenos (Janeway et al, 2007; Garrett et al, 2010).

Todos esses tecidos em conjunto com os ductos torácicos e a circulação do sangue permitem uma via de migração circulatória do sistema imune, que leva as secreções produzidas à todas as membranas mucosas do corpo (regiões oral e intestinal, trato respiratório superior e genitourinário) e tecidos glandulares associados (Bueno e Pacheco-Silva, 1999).

Papel Imunomodulador da Microbiota Intestinal

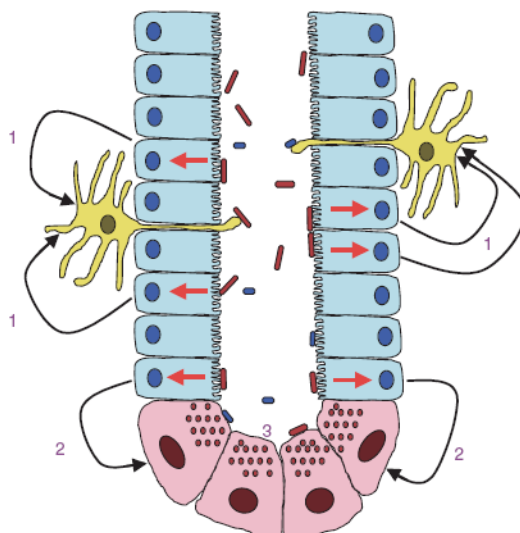
O trato gastrointestinal é um órgão que interage com o ambiente através de suas células enviando e recebendo mensagens e permitindo um “diálogo” entre as bactérias e o hospedeiro, além de formar uma eficiente barreira contra os patógenos devido às suas três linhas de defesa: a microbiota intestinal, a mucosa intestinal e sistema imunológico intestinal (Bourlioux et al, 2003; Fava e Danese, 2011).

A maioria dos mecanismos de defesa envolvidos na função da barreira mucosa são componentes do sistema imune inato e são mecanismos de defesa inespecíficos. No entanto, o sistema imune específico, o qual envolve uma resposta dirigida a um determinado agente, também contribui. A complexa interação entre os mecanismos imunes inatos e adquiridos protegem o hospedeiro contra os micro-organismos, preservando a mucosa intestinal e evitando a entrada e disseminação sistêmica de tais agentes (Bourlioux et al, 2003).

A barreira física que separa as bactérias intestinais dos tecidos subjacentes é composta por uma camada epitelial simples (formada por uma única camada de células), reforçada por uma camada de muco, secreção de IgA pelos plasmócitos presentes na lâmina própria da mucosa, e secreção de moléculas antibacterianas pelas Células de Paneth presentes no próprio epitélio. Contudo, algumas bactérias comensais podem penetrar essa barreira atingindo

tecidos mais profundos, causando bacteremia transitória. Neste momento, tais bactérias irão desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento do sistema imunológico local e sistêmico do hospedeiro (Macpherson e Harris, 2004).

Uma vez que as bactérias comensais atravessam a barreira mucosa, elas são mortas pelos macrófagos em poucas horas, porém elas podem sobreviver durante alguns dias dentro de células dendríticas, que são um dos primeiros tipos celulares do sistema imunológico a entrar em contato com os organismos invasores. As células dendríticas associadas às PP adquirem materiais transportados pelas células M, contudo, estudos recentes, sugerem que as células dendríticas da lâmina própria são capazes de estender dendritos através dos espaços interdigitais entre as células epiteliais e ter acesso direto ao conteúdo luminal, conforme ilustrado da Figura 2 (Hart et al, 2002; Macpherson e Harris, 2004).



Fonte: Parmer, 2007.

Figura 2: Interações dos microrganismos com a mucosa intestinal. Temos em 1) sinais TRL-mediados (setas) nas células epiteliais (azuis) podem induzir sondagem células dendríticas (verdes) em bactérias luminiais; 2) Sinalizações nas células epiteliais e células de Paneth (rosa) podem induzir a liberação de enzimas antimicrobianas (vesículas vermelhas).

Essas células dendríticas carregadas com as bactérias comensais conseguem então interagir com as células T e B nas placas de Peyer e/ou migrarem para os linfonodos mesentéricos (Macpherson e Harris, 2004). Os linfócitos, originados na medula óssea e no timo, entram nas placas de Peyer via circulação sanguínea e quando encontram algum antígeno estranho se tornam ativos, dessa forma os linfócitos B se diferenciam em plasmócitos e passam a produzir IgA contra o antígeno apresentado (Janeway et al, 2007). Após deixarem as placas de Peyer, estes linfócitos T ativados e os plasmócitos são

transportados pelos vasos linfáticos, passam pelos linfonodos mesentéricos, e essa linfa é coletada pelo duto torácico. Em seguida entra na circulação sanguínea, retorna à lâmina própria intestinal e banha outras mucosas como a do trato respiratório e genitourinário, imunizando-as contra o antígeno que desencadeou a resposta. Um esquema ilustrativo desta resposta imune desencadeada pelos micro-organismos comensais está representada na Figura 3 (Bueno e Pacheco-Silva, 1999; Macpherson e Harris, 2004).

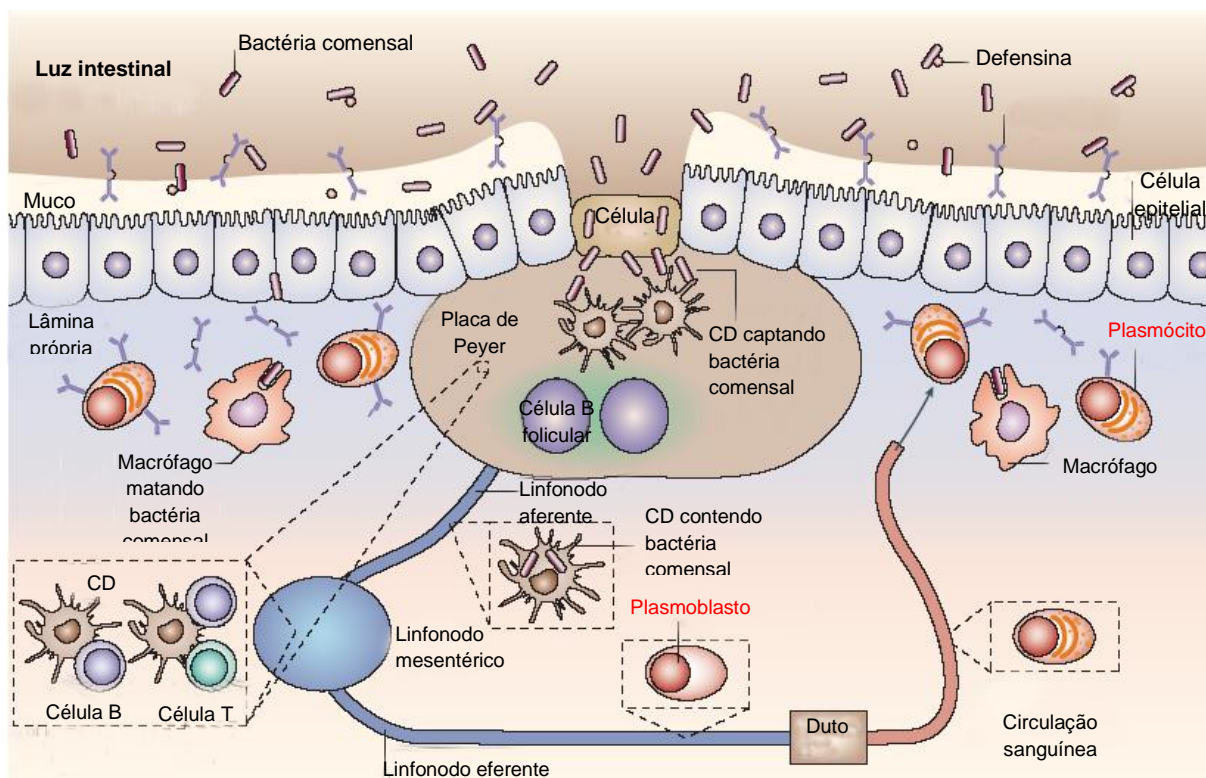


Figura 3: Interação entre bactéria comensal e sistema imune do hospedeiro, estimulando a resposta imune. Pode-se observar as bactérias sendo fagocitadas pelos macrófagos e também células M como via de entrada para as bactérias da flora normal, que são captadas pelas células dendríticas associadas às placas de Peyer onde promoverão a ativação dos linfócitos T e B e a diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos que passarão a produzir IgA, que será posteriormente distribuída para os demais tecidos via circulação sanguínea. Adaptado de Macpherson e Harris, 2004.

Esses mecanismos sugerem que o hospedeiro é altamente adaptado à presença de bactérias comensais intestinais, e prova disso vem da comparação de camundongos livres de germes, que não têm microbiota comensal, com animais da mesma espécie, que contêm uma flora simples. Em animais livres de germes, o sistema imunológico das mucosas está subdesenvolvido, com placas de Peyer subdesenvolvidas, além de apresentarem baço e linfonodos menos estruturados, com células T e B mal formadas e alteração nos plasmócitos,

levando a uma redução na produção e diversidade dos anticorpos. Todas estas anomalias podem ser revertidas, dentro de poucas semanas, com a colonização de animais livres de germes por bactérias comensais (Hart et al, 2002; Macpherson e Harris, 2004; Patel e Lin, 2010; Benvins e Salzman, 2011).

Outra prova da interação entre a flora normal e o sistema imune é que geralmente, linfócitos T e células NK da mucosa do tubo digestivo estão em um estado muito mais ativado do que as mesmas células presentes nos linfonodos periféricos e no baço. A maioria das células T CD4+ e CD8+ periféricas expressam o fenótipo indicativo de repouso, no entanto, no trato intestinal a maioria das células T CD4+ das Placas de Peyer estão ativadas e o mesmo se observa nas células NK. Em animais livres de germes, ambas as células, CD4+ na PP e a CD8+ ou células NK estão quiescentes (Cebra, 1999).

Em animais livres de germe alimentados com comida autoclavada há um pequeno desenvolvimento do sistema imune, induzido por restos ou por materiais solúveis de bactérias mortas. Em animais alimentados com uma dieta elementar (contendo aminoácidos hidrolisados, lipídios purificados e carboidratos) o sistema imune é extremamente suprimido (Macpherson e Harris, 2004).

A presença de bactérias comensais intestinais, por isso, tem claras consequências estruturais e funcionais para o sistema imunológico sistêmico do hospedeiro.

Probióticos e Prebióticos: Manutenção da Microbiota Intestinal

Conforme foi descrito ao longo deste trabalho, a microflora intestinal é de grande importância para o seu hospedeiro, portanto, mantê-la saudável e equilibrada resulta num desempenho normal das funções fisiológicas do hospedeiro, assegurando uma boa qualidade de vida. No intuito de preservação da flora intestinal, existem muitas pesquisas relacionadas com os probióticos e prebióticos (Saad, 2006; Souza et al, 2010).

Probióticos podem ser definidos como alimentos funcionais que contém micro-organismos vivos que, ingeridos em quantidade suficiente, exercem efeitos benéficos além da nutrição básica (Macedo et al, 2008; Oliveira-Siqueira et al, 2008). Já os prebióticos são componentes alimentares não digeríveis, que estimulam a atividade da microflora normal afetando benéficamente o hospedeiro (Bourlioux et al, 2003; Saad, 2006; Souza et al, 2010). Há também os simbióticos, uma mistura de prebióticos e probióticos em quantidades variadas (Souza et al, 2010).

Os alimentos funcionais probióticos e prebióticos estimulam os micro-organismos da flora intestinal e beneficiam seu hospedeiro aumentando a absorção de minerais e produção de vitaminas, auxiliando na digestão através da fermentação de carboidratos não digeríveis

presentes nos alimentos e transformando-os em ácidos graxos de cadeia curta, estimulando o sistema imune e modulando a microbiota intestinal uma vez que competem com as espécies patogênicas pelos sítios de adesão na mucosa, competem por nutrientes além de inibirem a população de patógenos devido a produção de ácido lático, ácido acético e substâncias antibacterianas (Saad, 2006).

As espécies mais comumente usadas e pesquisadas pertencem aos gêneros *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., e *Saccharomyces* sp., particularmente *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. bifidum*, e *S. cerevisiae* *boulardii* (Souza et al, 2010). Os probióticos e prebióticos são utilizados principalmente para a prevenção de desequilíbrios na flora intestinal, ao contrário das drogas que são usadas para curar doenças (Bourlioux et al, 2003).

Inúmeros laticínios probióticos estão disponíveis comercialmente e muitas pesquisas relacionadas ao assunto estão voltadas aos produtos como leites fermentados e iogurtes, sendo estes os principais produtos contendo culturas probióticas comercializados no mundo (Saad, 2006). Também estão disponíveis no mercado produtos a base de cereais, fórmulas para alimentação infantil, sucos de frutas e sorvetes contendo os micro-organismos benéficos (Macedo et al, 2008).

CONCLUSÃO

A microbiota normal é composta por diversos micro-organismos que estão adaptados a cada região do corpo na qual são residentes (Sekirov et al, 2010). No geral esta microbiota tem efeitos positivos para o seu hospedeiro e interagem com ele de forma harmoniosa, exceto nos casos onde ocorram a lesão da barreira de proteção ou quando o indivíduo apresenta baixa imunidade ou em bactérias patogênicas que afetam negativamente a saúde do hospedeiro. A microflora do trato intestinal, em especial, desempenha inúmeras funções no hospedeiro, pois evita a colonização deste órgão por bactérias patogênicas além de ocupar um papel chave na modulação do sistema imunológico (Madigan et al, 2004; Barbosa et al, 2006; Brandt et al, 2006; Patel e Lin, 2010; Rizzello et al, 2010).

Muitas células e órgão do sistema imune estão presentes na mucosa, que é um local de intenso contato com micro-organismos. Embora o intestino embora seja beneficiado pela presença de tais bactérias, o órgão necessita limitar o seu crescimento. Em consequência disso, muitas IgA são secretadas na luz intestinal, e há muitos linfócitos T e células NK nos tecidos linfóides da mucosa. Um papel especial é desenvolvido pelas células dendríticas das Placas de Peyer que apresentam o antígeno que penetra a barreira mucosa para o linfonodo

mesentérico e estimulam a ativação de células T e a produção de IgA pelos plasmócitos, sendo estas distribuídas através da circulação sistêmica a todos os tecidos de mucosa e células secundárias do sistema imune (Macpherson e Harris, 2004; Janeway et al, 2007; Benvins e Salzman, 2011). Efeitos da microbiota intestinal no sistema imunológico foram obtidos com estudos em animais livres de germes, que apresentaram o sistema imunológico consideravelmente suprimido em relação aos animais com flora normal (Hart et al, 2002; Macpherson e Harris, 2004; Patel e Lin, 2010; Benvins e Salzman, 2011).

Em vista de todos os efeitos benéficos que a flora normal desempenha muitos estudos foram direcionados para a preservação do equilíbrio desta flora de forma a garantir o bom funcionamento fisiológico do hospedeiro (Saad, 2006; Souza et al, 2010). Com isso, cada vez mais estudam-se os probióticos, bactérias da flora normal que em quantidade suficiente desempenham funções benéficas no hospedeiro e previnem a colonização do intestino por bactérias patogênicas (Macedo et al, 2008; Oliveira-Siqueira et al, 2008) e também os prebióticos, que são compostos não digeríveis que presentes no intestino favorecem a proliferação e atividade da microflora intestinal (Bourlioux et al, 2003; Saad, 2006; Souza et al, 2010).

REFERÊNCIAS

- Barbosa FHF, Bambirra FHS, Martins FS et al. Efeito antagonista de um *Peptostreptococcus* sp. da microbiota fecal humana frente a *Clostridium difficile* – avaliação “in vitro”, “ex vivo” e “in vivo” em camundongos gnotoxênicos. Rev de Biol. e Cienc da Terra. 6(1): 1-8, 2006.
- Bevins CL, Salzman NH. Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. Nature Reviews Microbiology. 9:356-368, 2011.
- Bourlioux P, Koletzko B, Guarner F et al. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host: report on the Danone Symposium “The Intelligent Intestine,” held in Paris, June 14, 2002. Am J Clin Nutr. 78: 675-683, 2003.
- Brandt KG, Sampaio MC, Miuki CJ. Importância da Microflora Intestinal. Pediatria. 28(2): 117-127, 2006.
- Bueno V, Pacheco-Silva A. Tolerância oral: uma nova perspectiva no tratamento de doenças autoimunes. Rev. Ass. Med. Brasil. 45(1): 79-85, 1999.
- Cebra JJ. Influences of microbiota on intestinal immune system development. Am. J. Clin. Nutr. 69: 1046S–51S, 1999.
- Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T et al. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. Microb. Mol. Biol. Rev. 62:1157-70, 1998.
- Fanaro S, Chierici R, Guerrini P et al. Intestinal microflora in early infancy: composition and development. Acta Paediatr. Suppl. 441: 48-55, 2003.

- Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: Friend of foe? *World J Gastroenterol* . 17(5): 557-66, 2011.
- Garrett WS, Gordon JI, Glimcher LH. Homeostasis and inflammation in the intestine. *Cell*. 140:859-70, 2010.
- Grolund M, Lehtonen O, Erola E et al. Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 28: 19-25, 1999.
- Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet*. 361: 512-19, 2003.
- Harmsen HJM, Wildeboer-Veloo ACM, Raangs GC et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification on detection methods. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 30: 61-7, 2000.
- Hart AL, Stagg AJ, Frame M et al. Review article: the role of the gut flora in health and disease, and its modification as therapy. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 16: 1383-93, 2002.
- Höfling JF, Gonçalves RB. *Imunologia para Odontologia*. Porto Alegre: Artmed, 2006.
- Janeway CA, Travers P, Walport M et al. *Imunobiologia – O Sistema imune na saúde e na doença*. Porto Alegre: Artmed, 2007.
- Kaul AL, Ahern PP, Griffin NW, Goodman AL, Gordon JI. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*. 474: 327-36, 2011.
- Macedo REF, Pflanze Jr SB, Terra NN, et al. Potencial bioterapêutico dos probióticos nas parasitoses intestinais. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 28(3): 509-19, 2008.
- Macpherson AJ, Harris NL. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nature Reviews Immunology*. 4: 478-85, 2004.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. *Microbiologia de Brock*. ed. Prentice Hall, 2004. Volume eletrônico.
- Martins FS, Tiago FCP, Barbosa FHF et al. Utilização de leveduras como probióticos. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*. 5(2): 1-13, 2005.
- Oliveira-Sequeira TCG, Ribeiro CM, Gomes MIFV. Potencial bioterapêutico dos probióticos nas parasitoses intestinais. *Ciência Rural*, 38(9): 2670-9, 2008.
- Pamer EG. Immune responses to commensal and environmental microbes. *Nat. Immunol.* 8: 1173–8, 2007.
- Patel RM, Lin PW. Developmental biology of gut-probiotic interaction. *Gut Microbes* 1(3): 186-95, 2010.
- Pavert SA, Mebius RE. New insights into the development of lymphoid tissues. *Nature Reviews Immunology*. 10:664-74, 2010
- Pelczar Jr MJ, Chan ECS, Krieg NR. *Microbiologia, Conceitos e Aplicações*. São Paulo: Makron Books, 1996.
- Pinto AM, Todo-Bom A. Flora Microbiana, Sistema Imunitário e Atopia. *Rev. Portuguesa de Imunoalergologia*. 7: 199-208, 2004.
- Rizzello V, Bonaccorsi I, Dongarr`a ml et al. Role of Natural Killer and Dendritic Cell Crosstalk in Immunomodulation by Commensal Bacteria Probiotics. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011: Article ID 473097, 10 pages, 2011.

- Saad SMI. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 42(1): 1-16, 2006.
- Sekirov I, Russell SL, Antunes CM et al. Gut Microbiota in Health and Disease. *Physiol. Rev.* 90: 859–904, 2010.
- Souza ME, Pereira PCM. Microbiota intestinal de indivíduos que sofreram acidente ocupacional com materiais biológicos e que realizaram profilaxia anti-retroviral. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 40(6): 653-56, 2007.
- Souza FS, Cocco RR, Sarni ROS, Mallozi MC, et al. Prebióticos, probióticos e simbióticos na prevenção e tratamento das doenças alérgicas. *Rev. Paul. Pediatr.* 28(1): 86-97, 2010.
- Tannock GW. The normal microflora: an introduction. In: Tannock GW, ed. *Medical importance of normal microflora*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1-23, 1999.
- Toivanen P, Vaahtovuori J, Eerola E. Influence of major histocompatibility complex on bacterial composition of fecal flora. *Infect. Immun.* 69: 2372-7, 2001.
- Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiologia*. Porto Alegre: Artmed, 1998.