

BACTÉRIAS INTESTINAIS E MANUTENÇÃO DO SISTEMA IMUNE: artigo de revisão

Talles Prosperi de Paula¹⁶

RESUMO

Convivemos diariamente com milhares de grupos microbianos residentes que exercem influência direta sobre o metabolismo geral de nosso organismo hospedeiro. Em especial, alguns grupos bacterianos participam ativamente na dinâmica molecular de mediadores do sistema imune, auxiliando de maneira importante a expressão proteínas reguladoras. A microbiota intestinal possui amplo papel, exercendo também auxílio na maturação e diferenciação de células de defesa. A manutenção e o controle de grupos colonizadores do intestino poderão futuramente embasar e auxiliar na terapia de tratamento de anomalias do tubo digestivo tais como colites, enterites e neoplasias; além de desordens imunológicas.

Palavras chaves: *Microbiota. Sistema Imune. Doenças Inflamatórias Intestinais.*

1 INTRODUÇÃO

Todas as espécies do planeta Terra coexistem e convivem com uma ampla e numerosa variedade de microrganismos, encontrados naturalmente espalhados e distribuídos por inúmeros nichos externos. Muitos destes elementos microbianos podem ser adquiridos ou mesmo alojar - sem no interior dos organismos ditos **hospedeiros** e os mais adaptados possuem características próprias que permitem invasão, proliferação interna, exercendo interação mutualística (benéfica) ou patogênica (prejudicial). Este contato (microrganismo-hospedeiro) é constante, desde a fase posterior subsequente ao

¹⁶ *Doutorando do Departamento de Microbiologia da Universidade Federal de Minas Gerais do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Mestre em Biologia Celular pelo Depto. de Morfologia do ICB/ UFMG. Docente durante 10 anos, lecionando em disciplinas como Anatomia Humana, Histologia, Embriologia, Fisiologia, Biofísica e Microbiologia para cursos de Enfermagem, Farmácia e Ciências Biológicas em muitas instituições, entre elas; UFMG, UNIPAC BH e Nova Lima e FASEH.*

nascimento até a fase adulta. Interessantemente, estudos demonstram que estas relações são exercidas há milhões de anos e acompanham tanto a evolução destes microrganismos residentes quanto de seus hospedeiros (revisão em ECKBURG et al., 2005, LEY et al., 2008). Além disso, hoje se sabe que muitos fenômenos metabólicos e imunes são mantidos ou alterados de acordo com os microrganismos que nos povoam internamente. Sabemos, por sua vez, que nascemos completamente estéreis e que durante o nascimento, e logo após; microrganismos colonizadores, principalmente bactérias e leveduras provenientes da mãe e do meio ambiente, iniciam o desenvolvimento lento e gradual de uma coleção de microrganismos que posteriormente configurarão a denominada **microbiota residente**, também reconhecida popularmente como “**flora bacteriana ou microflora bacteriana residente**” (KELLY; COUTTS, 2000; MACPHERSON et al., 2005). Os elementos microbianos representantes desta **microbiota** podem ser isolados de vários substratos no organismo como a pele, o trato respiratório superior, a boca, os olhos; e principalmente o intestino grosso. Os microrganismos formadores da microbiota possuem inúmeras estratégias para conseguirem se aderir às superfícies dos epitélios, ligando-se diretamente ou indiretamente através do ancoramento de moléculas, multiplicando-se com o tempo e configurando seus limites de colonização em cada área. Posteriormente são reconhecidos pelo sistema imunológico do hospedeiro. Componentes estruturais típicos de bactérias tais como parede celular, cápsulas, cílios e flagelos representam elementos antigênicos que ativam respostas imunológicas inatas e adaptativas, através de diferentes estratégias de sinalização intracelulares em sítios enzimáticos específicos (KAPER et al., 2005, SONENBURG et al., 2005; TANNOCK et al., 2007, SLACK et al., 2009). Além disso, a presença ou ausência de alguns grupos de microrganismos podem ser determinantes, influenciando diretamente a ocorrência ou frequência de anomalias relacionadas ao tubo digestivo, bem como desordens imunológicas.

Dessa forma, podemos definir a microbiota residente de um indivíduo como o conjunto de todos os microrganismos que convivem e estabelecem relações diretas com seu organismo hospedeiro.

As mucosas devido à sua maior exposição com o meio externo constituem substratos propensos à colonização por muitos tipos microbianos adquiridos através da alimentação (SANSONETTI et al., 2004, ARTIS, 2008). Neste contexto, é importante salientar a observação sobre as diferentes relações ecológicas existentes entre os milhares de microrganismos residentes e nós, seus hospedeiros (BLASER;

KIRSCHNER; 2007). Além disso, ressaltar a importância clínica das infecções por diversos microrganismos oportunistas ou a proliferação descontrolada de espécies microbianas patogênicas mediante a algum desequilíbrio entre as espécies colonizadoras (DETHLEFSEN et al., 2007).

2 MICROBIOTA INTESTINAL E SUA IMPORTÂNCIA

O intestino é um órgão sofisticado, com grande potencial na manutenção da homeostase orgânica, dotado de sistema linfóide (imune) próprio, distribuído por toda sua trajetória, capacitado para absorver nutrientes e manutenção da resposta imunológica geral do organismo. Representa um dos principais bloqueios epiteliais do organismo, constituindo barreira efetiva contra proliferação de patógenos em possível trânsito digestivo e representa local propício para coexistirem os microrganismos benéficos (mutualistas) específicos formadores da microbiota intestinal, também determinada por alguns autores como flora intestinal ou microflora intestinal. Muitos estudos têm investigado o papel de bactérias como *Bacteroides thetaiotaomicron* e *Bacteroides fragilis*, como imprescindíveis na manutenção e polarização de células imunes do organismo. Outras espécies pertencentes aos gênero *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, entre outros, desempenham funções ainda pouco esclarecidas, exercendo influência direta sobre o hospedeiro na maturação da resposta imune do organismo através da apresentação de antígenos* (ATARASHI et al., 2011).

Estes componentes microbianos podem ser encontrados alojados em criptas intestinais, associados às células que constituem o epitélio mucoso intestinal, ricamente vascularizado. Esta intensa vascularização intestinal, apropriada para captar os alimentos em trânsito e incorporá-los à circulação sanguínea, constitui também um dos principais reservatórios para as células especializadas na captação e reconhecimento de partículas externas, e o posterior reconhecimento destas moléculas necessárias ao controle na produção de anticorpos específicos das mucosas como IgA (SAVAGE, 1999; FASANO; NATARO, 2004; MUMMY et al., 2005; TANNOCK, 2007; SLACK et al., 2009). Alguns autores consideram o termo “microbiota normal do hospedeiro”, sendo esta terminologia contraditória, já que não existe uma padronização sobre a distribuição de espécies que possam constituir microbiotas residentes entre indivíduos semelhantes, com hábitos alimentares distintos (FINEGOLD et al., 1983, GIL & FINLEY, 2011).

Sabe-se que mais de 10^{14} bactérias comensais encontram-se apoiadas sobre a superfície intestinal (correspondente a 1,2 Kg de peso corporal humano). Em proporção, o número de representantes procarióticos deste grupo ultrapassa, de maneira impressionante, o número de todas as células eucarióticas que configuram todos os tecidos do organismo de todos os mamíferos (SAVAGE, 1999, SUDO et al., 2004).

*= partícula protéica ou parte de uma proteína que leva à produção de anticorpos.

Pouco se sabe, portanto, sobre todas as influências exercidas por estes microrganismos, de maneira abrangente. Como não pensar que milhares de bactérias não possam exercer grande papel, influenciando o perfil diagnóstico e/ou agravamento de doenças intestinais e imunes. O poder terapêutico de algumas bactérias mutualistas ainda precisam ser decifrados, principalmente perante doenças de caráter inflamatório.

As funções benéficas desempenhadas por estas bactérias residentes já são bem determinadas. Bactérias comensais, por exemplo, exercem papel importante na proteção contra a proliferação de patógenos oportunistas e na manutenção da homeostase intestinal e produção de anticorpos de mucosa (revisão em ARTIS, 2008). Neste aspecto, auxiliam a síntese do muco formador do revestimento de cobertura para proteção das células epiteliais intestinais, servindo também como substrato de apoio para proliferação microbiana simbiote. Além disso, bactérias simbióticas residentes nos cólons também exercem importante auxílio na produção de energia aproveitável pelo epitélio hospedeiro. Células da mucosa colonizada obtêm 60 a 70% do total de sua energia provenientes dos produtos de fermentação bacterianas geradas no lúmen (CUMMINGS & MACFARLANE, 1991)

Na tabela 1 estão descritos os principais gêneros bacterianos da microbiota comensal, seus produtos finais de metabolismo, bem como o destino metabólico destes produtos no organismo hospedeiro. A tabela 2 é complementar e demonstra efeitos benéficos específicos, relacionados à produção dos ácidos graxos de cadeia leve (AGCC) por parte da microbiota ao hospedeiro.

Outra função já bem descrita é a produção de vitaminas aproveitáveis pelo organismo. Dentre elas, existe importante síntese de vitamina K pelos componentes da microbiota. Este nutriente é representante da família das naftaquinonas, homólogo à vitamina K2 (menaquinona) que é prontamente assimilável pelos transportadores situados nos enterócitos e não são suficientemente incorporados pela dieta (GOLDIM et al., 1994; revisão em MACPHERSON et al., 2001). Muitas bactérias comensais são

capazes de converter moléculas análogas às naftaquinonas, em vitamina K2, que pode então ser assim, ser assimilada pelo hospedeiro.

Além disso, vale ressaltar também a habilidade e algumas bactérias em sintetizar vitaminas do complexo B, altamente assimiláveis pelo hospedeiro. Gêneros como *Pseudomonas* e *Klebsiellas* são capazes produzirem vitamina B12 (cianocobalamina) em quantidades significativas. Apesar disto, cerca de 5µg desta vitamina são eliminados normalmente nas fezes devido à falta de receptores específicos na superfície do cólon. Bactérias comensais, tais como as espécies *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum* sintetizam os subtipo B1(tiamina), B6(piridoxina), B9 (ácido fólico) além de vitamina B12 e ácido nicotínico (revisão em THESHIMA, 2003) e atualmente são bastante exploradas na produção de probióticos#. Estes complementos da dieta são microrganismos que exercem poder benéfico para o organismos, utilizados atualmente na fabricação de iogurtes que auxiliam no controle intestinal.

iogurtes ou complementos alimentares rico em bactérias benéficas da microbiota.

Quadro 1 - Benefícios especiais da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) pela microbiota comensal

Grupos bacterianos	Produto final do metabolismo	Destino metabólico
<i>Bacteroides</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> <i>Veillonella</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Fusobacterium</i> e <i>Butyrivibrio</i>	Acetato	Músculo, rins, coração e cérebro.
<i>Bacteroides</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Veillonella</i>	Propionato	- purificado a partir de transformações no fígado, - precursor da glicose, - supressor na síntese de colesterol.
<i>Clostridium</i> , <i>Fusobacterium</i> ,	Butirato	- epitélio do cólon

<i>Butyrivibrio, Eubacterium, Peptostreptococcus.</i>		(crescimento e difusão celular).
<i>Bacteroides, Bifidobacterium, Eubacterium, Lactobacillus, Clostridium, Ruminococcus, Actinomyces, Enterococcus e Fusobacterium</i>	Etanol succinato lactato piruvato	- produtos intermediários de fermentação reversíveis em ácidos graxos de cadeia curta.
<i>Clostridium, Ruminococcus, Fusobacterium</i>	Hidrogênio	- parcialmente excretados nos processos metabólicos e durante a respiração

Como visto, são muitas as ações benéficas propiciadas pela microbiota residente, bem como sua influência sobre o organismo. (MACPHERSON et al., 2001, CHELVARAJAN et al., 2007; ZHANG et al., 2007), Portanto, muito da **influência total** exercida por estes grupos ainda precisam ser amplamente investigados pela ciência, pois permanecem obscuros. Em contrapartida, a ausência de alguns dos grupos mutualistas pode acarretar no agravamento e propensão em adquirir doenças inflamatórias intestinais. Estes aspectos ainda demandam pesquisas para a área da microbiologia, a biologia celular e para medicina, que tentam incansavelmente propor inúmeras estratégias ou modelos biológicos para descobrir relações imunológicas específicas estabelecidas e ainda pouco desvendadas (GABOURIAU-ROTHIAU et al., 2009;), já que muitas são inúmeras as bactérias colonizadoras.

Quadro 2 - Benefícios especiais da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) pela microbiota comensal.

AGCC	Ações específicas	Benefícios
AGCC total	-Diminuição do pH	-Diminuição da disponibilidade de complexos alcalinos citotóxicos. -Inibição bacteriana;
Acetato	-Aumento na absorção de íons Ca^{2+}	-Diminuição da perda fecal de

	e Mg^{2+} ; -Diminuição da resistência de absorção pelo endotélio.	cálcio ou magnésio; -Aumento do fluxo de permeabilidade sanguínea venosa portal-hepática do cólon.
Propionato	-Aumento da contração da musculatura lisa visceral do cólon; -Diminuição na resistência do endotélio; -Estímulo no transporte de eletrólitos; -Proliferação do epitélio.	-regularidade intestinal; -Aumento do fluxo sanguíneo venoso portal-hepático e do cólon; -Aumento da captação de nutrientes; -Prevenção da diarreia.
Butirato	-Diminuição da resistência no endotélio; -Manutenção de enterócitos do cólon; -Estímulo ao transporte de íons no cólon.	-aumento no fluxo sanguíneo venoso portal-hepático e do cólon; -aumento da integridade da mucosa; -reparo de colites ulcerativas; -proliferação epitelial; -diminuição do risco de malignidade; -aumento na absorção dos íons necessários; -prevenção da diarreia.

3 A CONFIGURAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL DE HUMANOS

Os representantes bacterianos totais da microbiota humana intestinal podem ser agrupados em três grupos distintos: dominantes, subdominantes e transitórios. Entre as dominantes (10^9 e 10^{13} UFC/g de conteúdo), destacam-se bactérias anaeróbicas estritas dos gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*. As espécies subdominantes (10^7 e 10^8 UFC/g) são geralmente anaeróbias facultativas como *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*; e algumas vezes *Lactobacillus sp.* Alguns autores incluem este último grupo entre as bactérias dominantes. Entre os representantes transitórios ($<10^7$ UFC/g de conteúdo), estão os

gêneros *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Veillonella*, *Gaffkya*, *Cropococcus* e outros cocos anaeróbios.

Vale ressaltar que além da incorporação de muitas variedades bacterianas ativas e latentes, são diariamente ingeridos conjuntamente leveduras, fungos filamentosos, nematóides, vírus, protozoários e esporos fúngicos dispersos pelo ar ou aderidos aos componentes da dieta cotidiana, veiculados por partículas em suspensão inaladas. Inicialmente, após o nascimento, proliferam-se no intestino grupos bacterianos tais como *Lactobacillus*, micoplasmas, bacilos aeróbicos facultativos e dos gêneros *Enterobacterium*, *Enterococcus* e *Staphylococcus*. Posteriormente, com o consumo gradual e progressivo do oxigênio, se estabelecem os representantes *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* e *Clostridium* (ADLEBERTH, 2008), sendo que a grande maioria das bactérias isoladas nas fezes de adultos é anaeróbia estrita (GIBSON & RODENFROID, 1995; MITSUOKA, 1996; QUINTANILHA et al., 2007). Em condições normais, a microbiota encontra-se relativamente estável ao longo da vida (MITSUOKA, 1982; MACKIE et al., 1999). Porém, os representantes microbianos podem ser alterados com a idade ou fatores condicionais, como o uso de antimicrobianos. Sabe-se, por exemplo, que a microbiota de indivíduos idosos, maiores de 60 anos ou acometidos por doenças ou uso de antimicrobianos, difere qualitativamente e quantitativamente, daquelas encontradas em jovens e recém-nascidos (BENNO et al., 1985; MITSUOKA et al., 1992, KELLY & COUTTS, 2000, TANAKA et al., 2009). Os indivíduos adultos contêm maiores proporções de bactérias do gênero *Clostridium* e populações numericamente menores de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, em relação à microbiota de adolescentes e crianças (MITSUOKA et al., 1992; NICOLI et al., 2005). Além disso, esta microbiota pode sofrer alterações bruscas de acordo com a dieta e pouco se sabe sobre o efeito de conservantes, corantes e estabilizantes sobre estes microrganismos.

3.1 Relação entre a microbiota intestinal e a resposta imune

O encontro com antígenos microbianos é essencial na maturação do sistema imune do hospedeiro (NEUTRA, 1999; SANSONETTI, 2004; ARTIS, 2008). As células da resposta imune inata, como macrófagos e neutrófilos, estão presentes durante períodos primordiais da gestação, e a infiltração destas células no intestino requer estímulos antigênicos oferecidos após o nascimento. Após o contato do microrganismo com o

epitélio, torna-se necessário o estabelecimento de interações complexas que ocorram de forma dependente tanto dos microrganismos quanto de seu hospedeiro, importantes na regulação fisiológica de ambos. Estas interações possuem padrões de reconhecimento molecular mútuo que quando acoplados, desencadeiam respostas no hospedeiro, indicando rejeição ou tolerância ao microrganismo (MACPHERSON et al., 2001, CHELVARAJAN et al., 2007; ZHANG et al., 2007).

Estão incluídas neste contexto, proteínas de membrana altamente especializadas, na forma de receptores presentes nas superfícies das células apresentadoras de antígenos, próprias do epitélio intestinal, capazes de acoplar a milhares de moléculas expressas nas superfícies bacterianas. Sabe-se que, por exemplo, que adesinas bacterianas cumprem funções importantes no direcionamento de rotas de segundos mensageiros intracelulares, na fosforilação de radicais e mobilização de estoques intracelulares de cálcio nas células do intestino, através de acoplamentos com receptores específicos, desencadeando importantes ações regulatórias no controle da expressão gênica no hospedeiro (NEUTRA et al., 1999, SANSONETTI e tal., 2004, KELLY et al., 2005. MAHOWALD et al., 2009).

Além disso, a síntese de muitas glicoproteínas, imunoglobulinas e defensinas pelos epitélios, também são moduladas pelo estímulo proveniente do contato microbiano. Destaca-se a síntese significativa de IgA pelo epitélio intestinal, inibidora da proliferação bacteriana e que é concomitantemente estimulada pelas bactérias simbióticas, transitórias e patogênicas (MACPHERSON et al., 2007).

As bactérias simbióticas ou patogênicas determinam, através de seus epítopos, a polarização de linfócitos $\alpha\beta$ T auxiliares convencionais e células B2 que, após serem ativados, tornam-se os principais efetores da resposta imune adaptativa, primariamente junto aos epitélios e posteriormente do organismo como um todo (MEDZHITOV, 2007). Porém, os vários mecanismos pelos quais as bactérias indígenas colonizam os epitélios, bem como originam a resposta imune adaptativa, estão ainda longe de serem totalmente esclarecidos.

Sabe-se, porém, que grande parte da resposta imune inata provém inicialmente da ativação de sensores moleculares, incluídos na família dos PRRs (receptores de reconhecimento de padrões moleculares), expressos amplamente pelas células epiteliais, que reconhecem moléculas conhecidas como PAMPs (padrões moleculares associados aos patógenos), expressas continuamente na superfície dos microrganismos. Os PAMPs podem ser de diferentes tipos como o LPS (lipopolissacarídeo), o ácido

lipoteicóico, o peptidoglicano, as lipoproteínas ou os β -glucanos derivados das paredes celulares fúngicas. Nesse contexto, dinâmicas estabelecidas por moléculas peculiares, tais como TLRs (*receptores do tipo Toll*), vêm sendo enfatizadas (KELLY; CONWAY, 2005). Estudos investigam o papel desempenhado por grupos de moléculas como TLR-2, TLR-4, TLR-5 e TLR-9 (toll like receptors) expressos nas superfícies das células epiteliais intestinais, como os principais envolvidos no reconhecimento microbiano e capazes de modular a resposta imune (KARLSON et al., 2002; KARRASH et al., 2007; CHELVARAJAN et al. 2007).

O contato das moléculas de superfície, determinam a ativação de múltiplos ligantes endógenos, entre eles a fosforilação de IKK e representantes das famílias de NLR (*NOD like receptors 1 e 2*), e no recrutamento de peptídeos adaptadores intracelulares presentes nos enterócitos; tais como MyD88, MAL, TRIF, TRAM, SARM; importantes na formação de inflamassomas (MEDZHITOV, 2007; MAGALHAES et al., 2007, PELEGRIN et al., 2008; SHARP et al., 2009). Outros mediadores intracelulares tais como NF- κ B, PPAR γ , p40, p50, p12, iNOS, proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPK) e caspases inflamatórias, também são mobilizados por PAMPs em diferentes situações (KELLY et al., 2005; MEDZHITOV, 2007, NENCI et al., 2007; ARTIS, 2008). Todas as relações conjuntas entre reconhecimento, receptores ativados e peptídeos expressos; influenciam no estabelecimento da microbiota, na homeostase imunológica do hospedeiro, bem como na expressão de peptídeos inflamatórios expressos diante de lesões e estabelecimento de doenças (ARTIS, 2008).

Doenças inflamatórias intestinais representam um grave problema de saúde pública. Milhões de pessoas são abaladas por muitas doenças ainda pouco conhecidas adquiridas pela influência de fatores externos ou geneticamente pré-estabelecidos,

Dentre as muitas patologias associadas ao intestino podemos citar como a doença de Kron (doença auto-imune que pode levar à falência das funções intestinais, inflamação exacerbada e morte) e colite inflamatória aguda (relacionada a inflamação do cólon). Sabe-se que estas anomalias estão relacionadas a um defeito de produção em um fator de sinalização intracelular conhecido como *NOD2*. Esta proteína é intimamente integrada às moléculas que coordenam a expressão de genes necessária á sobrevivência das células intestinais e também está relacionada à ocorrência de processos inflamatórios.

As síndromes de intolerância ao glúten e à lactose, e também como doenças de caráter infeccioso precisam ser amplamente elucidadas de forma a estabelecer relações entre a existência de determinados grupos de microrganismos que só agora começam a ser reconhecidos e explorados, relacionados á vasta gama de moléculas, mecanismos enzimáticos e trocas iônicas estabelecidas entre as incontáveis moléculas que estabelecem a ponte entre terapêutica e tratamento de doenças inflamatórias intestinais.

THE USE OF MICROBES AS STRATEGY TO TREAT CRONIC INTESTINE

DISEASES

ABSTRACT

The people live with thousands of resident microbes which exert direct influence on their general metabolism. For instance, many groups of bacteria have special strategies to establish benefic regulation from immune mechanisms. The intestinal microbiota has an important role in maturation and differentiation from defense cells. The intestine colonizers groups' maintenance and control could be a helpful strategy to effort treatment of digestive abnormalities like colitis and enteritis, as well immunological disorders.

Word Keys: Microbiota. Immune System, Intestinal Inflammatory Diseases.

REFERÊNCIAS

ADLERBERTH I. Factors influencing the establishment of the intestinal microbiota in infancy. *Nutr. Ser. Pediatr. Program* v.62 p.13-29, 2008.

ARTIS, D. Epithelial cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nature Rev. Immunol.*; v.8 p. 411-420, 2008.

BENNO Y.; SAWADA K.; MITSUOKA T. The intestinal microflora of infants: fecal flora of infants with vitamin K deficiency. *Microbiol Immunol.* v.29(3) p.243-50, 1985.

CHELVARAJAN, L.; POPA, D.; LIU, Y.; GETCHELL, T.V.; STROMBERG, A.J.; BONDADA, S. Molecular mechanisms underlying anti-inflammatory phenotype of neonatal splenic macrophages. *J. Leuk. Biol.* v. 82 p. 403-415, 2007.

ECKBURG, P.B.; BIK E.M.; BERNSTEIN C.N.; PURDOM E.; DETHLEFSEN L.; SARGENT M.; GILL S.R.; NELSON K.E.; RELMAN D.A. Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora. *Science*; v. 308 (5728) p. 1635–1638, 2005.

FINEGOLD S.M.; SUTTER, V.L.; MATHISSEN G.E. Normal indigenous intestinal flora In "Gastrointestinal Microflora in Health in Health and Disease" (D.J. Hentes),. Acad Press NY p.3-32, 1983.

GABORIAU-ROUTHIAU V.; RAIBAUD P.; DUBUQUOY C.; MOREAU M.C.; Colonization of gnotobiotic mice with human gut microflora at birth protects against *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin-mediated abrogation of oral tolerance. *Pediatr. Res.* v. 54(5) p.739-46, 2003.

GIBSON, G.R; RODENFROID, M.B. Dietary modulation of colonic microbiota :introducing the concept of prebiotics. *The J. of Nutr.*v. 125 p.1401-1412, 1995.

KELLY D.; COUTTS A.G. Early nutrition and the development of immune function in the neonate. *Proc Nutr Soc* v. 59(2) p.177-85, 2000 .

MACPHERSON, A.J.; HUNZIKER, L.; McCOY, K.; LAMARRE, A. IgA responses in the intestinal mucosa against pathogenic e non-pathogenic microorganisms. *Microb. Infect.*v.3 p. 1021-1035, 2001.

MACKIE, R.I.; SGHIR, A.; GASKINS, H.R. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am. J. Clin. Nutr.* v. 69 p.1035S-1045S, 1999.

MAHOWALD, M.A.; REY, F.E.; SEEDORF H.; TURNBAUGHA, P.J.; FULTON R.S.; NEHA SHAH, A.W.; WANG, C.; MAGRINI, V.; WILSON, R.K.; CANTAREL, B.D.; , COUTINHO, P.M. ; HENRISSAT, H.; CROCK, L.W.; RUSSELL, A.; VERBERKMOES, N.C.; HETTICH R.L.;GORDON, J.I. Characterizing a model human gut microbiota composed of members of its two dominant bacterial phyla. *Proc Natl Acad Sci* v. 106(14) p.5859-64, 2009.

MEDZHITOV, R. Recognition of microorganisms and activation of the immune response. *Nature*, v.449(8) p.819-825, 2007.

MITSUOKA, T. Intestinal flora and aging. *Nutr. Rev* v. 50 p.438-446, 1992.

MITSUOKA, T. Recent trends in research on intestinal flora. *Bifidobac. Microf.* v.1 p. 3-24, 1982.

NAVKIRAN GILL & B. BRETT FINLAY. The gut microbiota: challenging immunology, *Nature Reviews Immunology* **11**, 636-637, 2011.

NEUTRA MR. M cells in antigen sampling in mucosal tissues. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* v. 236:17-32, 1999.

NEUTRA, M.R.M.; MARTIN, N.J.; KRAHEMBUHL, J.P. Colaboration of the epithelial cells with organized mucosal lymphoid tissues. *Immunol. Nature*, v2 (11) p 1004-1008, 2001.

NICOLI, J.R.; VIEIRA, E.C.; PENNA, J.F.; VIEIRA, L.Q.; RODRIGUES, A.C.P., NEUMANN, E.; SILVA A.M.; FILHO, J.V.M.L.; BAMBIRRA, E.A.; ARANTES, R.M.E.; MACHADO, D.C.C Probióticos: experiências com animais Gnotobióticos. In Prébióticos e Probióticos, UFV, p:123-133, 2003.

QUINTANILHA, A.G.; ZILBERSTEIN, B.; SANTOS M.A.A.; PAJECKI, D.; MOURA, E.G.H.; ALVES P.R.A.; MALUF-FILHO, F.; CECONELLO, I. A novel sample method for the investigation of gut microbiota. *World J. Gastroenterol.* v. 13(29) p. 3990-3995, 2007.

LEY, R.E.; LOZUPONE, C. A.; HAMADY, M.; KNIGHT, R; GORDON, J.I. Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota. *Nat Rev Microbiol.*, v.6 p.776-787, 2008.

SANSONETTI, P.J. War and peace at mucosal surfaces. *Na. Rev. Immunol.* 4:953-964, 2004.

SONNENBURG J.L.; XU J.; LEIP D.D.; CHEN C.H.; WESTOVER B.P.; WEATHERFORD J.; BUHLER J.D.; GORDON J.I. Glycan foraging in vivo by an intestine-adapted bacterial symbiont. *Science* v.307(5717) p.1955-9, 2005.

SUDO N, CHIDA Y, AIBA Y, SONODA J, OYAMA N, YU XN, KUBO C, KOGA Y. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol.* v.558 (1) p.263-75, 2004.

ZHANG M.; LIU B.; ZHANG Y.; WEI H.; LEI Y., ZHAO L. Structural shifts of mucosa-associated lactobacilli and *Clostridium leptum* subgroup in patients with ulcerative colitis. *J Clin Microbiol.* v.45(2) p.496-500, 2007.