

Marlene Neto Bernardino

Probióticos no tratamento de alergias

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Gabriela Jorge da Silva e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2014



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Marlene Neto Bernardino, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2009010348, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

Mais declaro que este é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 11 de Julho de 2014.

(Marlene Neto Bernardino)

A tutora:



(Professora Doutora Gabriela Jorge da Silva)

A aluna:



(Marlene Neto Bernardino)

Agradecimentos

Sendo este o trabalho que representa o fim de um percurso académico de 5 anos,
não posso deixar de agradecer a quem sempre me apoiou:

A toda a equipa de docentes e não docentes da Faculdade de Farmácia pela excelente
formação que recebi,

À Professora Doutora Gabriela Jorge da Silva pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho,

Aos meus amigos de Coimbra, que sempre estiveram presentes em todo o meu percurso e
com quem vivi esta etapa.

E mais importante que tudo, tenho que agradecer
aos meus Amigos de sempre e ao meu Namorado, pela paciência e apoio,
ao meu Pai, que me permitiu seguir e concretizar este sonho,
às minhas Irmãs, que estiveram sempre comigo e sempre me aturaram,
e à minha Estrelinha, que continua a brilhar e a transmitir a sua força.

A todos, um muito Obrigada.

Resumo

A incidência de alergias tem vindo a aumentar nos últimos tempos e, embora este facto possa estar associado a vários factores, a teoria da hipótese higiénica defende que a falta de contacto com microrganismos no início da vida é uma das principais causas do desenvolvimento menos eficaz do sistema imunológico.

O microbiota intestinal, além de exercer efeitos sobre o sistema imunológico e sobre a função epitelial do intestino tem, também, um papel fundamental na defesa do organismo e na prevenção e tratamento de alergias.

Apesar do aumento de incidência de alergias, as terapêuticas não estão a evoluir, daí que os probióticos surjam como uma possível opção terapêutica. A investigação nesta área está a aumentar e os ensaios clínicos têm demonstrado bons resultados. Estes microorganismos actuam por diversos mecanismos e têm um grande impacto na composição do microbiota intestinal e no desenvolvimento do sistema imune, por isso, podem ter efeitos em doenças alérgicas como eczema atópico, asma, rinites e alergia a alimentos.

Abstract

The incidence of allergies has risen in the past years and, although this fact may be associated to various factors, the theory of the hygiene hypothesis proposes that the lack of contact with microorganisms in early life is one of the main reasons for a less efficient development of the immune system.

Intestinal microbiota that has an effect on the immune system and epithelial function of the intestine, also plays a fundamental role in the body's defence system and in the prevention and treatment of allergies.

Despite the rise in the incidence of allergies, therapies are not evolving, allowing probiotics to appear as possible treatments. Research in this field is increasing and clinical trials have shown good results. These microorganisms act through various mechanisms and have a great impact on the composition of intestinal microbiota and on the development of the immune system, and therefore may affect certain allergic diseases, such as atopic eczema, asthma, rhinitis and food allergies.

Índice

Resumo	1
Índice	2
Índice de figuras.....	3
Índice de tabelas.....	3
Lista de abreviaturas	3
Introdução.....	4
1. As alergias	5
1.1 Mecanismo da alergia	6
1.2 Tratamento comum da alergia.....	9
2. Microbiota Intestinal.....	11
2.1 O que é o microbiota intestinal	11
2.2 Microbiota intestinal e o sistema imunológico.....	12
3. Probióticos.....	13
3.1 Probióticos - Evolução histórica.....	13
3.2 O que são probióticos.....	14
3.3 Probióticos no mercado.....	15
3.4 Produção de probióticos.....	16
3.5 Mecanismos de acção dos probióticos	18
4. Probióticos no tratamento de alergias	20
Conclusão.....	23
Bibliografia	24

Índice de figuras

Figura 1: Mecanismo da alergia: fase de sensibilização e fase alérgica.....	8
Figura 2: Mecanismo de acção dos tratamentos utilizados em alergias	10
Figura 3: Factores externos que influenciam a composição do microbiota intestinal	12
Figura 4: Etapas de produção de probióticos	17
Figura 5: Mecanismo de acção dos Probióticos	22

Índice de tabelas

Tabela 1: Características de um probiótico ideal	14
---	----

Lista de abreviaturas

AGCC- ácidos gordos de cadeia curta

BAL- bactérias produtoras de ácido láctico

GF- animais germfree

LGG- *Lactobacillus GG*

PRRs – padrões de reconhecimento padrão

Th- células T helper

Th reg- células T helper reguladores

TLR- receptores Toll like

WAO – World Allergy Organisation

Introdução

As alergias, um problema associado à exagerada e descontrolada acção do sistema imunológico, têm vindo a ser consideradas um problema de saúde pública com grande impacto no dia-a-dia das pessoas que sofrem deste problema.

A prevalência de alergias tem vindo a aumentar nas últimas décadas e, apesar de existirem vários factores que mostram que há indivíduos com alguma predisposição para o seu desenvolvimento devido a factores genéticos e hábitos de vida, este facto pode ser explicado através de várias teorias como a “Hipótese Higiénica” e outras, defendendo todas elas que o contacto com microrganismos em etapas iniciais da vida é fundamental para o desenvolvimento do sistema imunológico.

Também fundamental para o desenvolvimento do sistema imunológico é a composição do microbiota intestinal que pode ter um papel muito importante na regulação de doenças alérgicas. Em relação ao microbiota intestinal, num artigo recente do “The Economist” [1] surge a pergunta “Se as bactérias nos fazem adoecer, não pode a sua troca tornar-nos saudáveis?” É esta a ideia que os defensores dos microrganismos probióticos querem comprovar.

Os probióticos são microrganismos, vivos, que, quando utilizados em doses correctas, trazem benefícios à saúde do hospedeiro. Têm sido alvo de vários estudos, demonstrando que ao serem utilizados, tanto em alimentos como suplementos alimentares e medicamentos, trazem benefícios para a saúde do hospedeiro. Estes benefícios podem surgir a vários níveis como são exemplo o controlo de desregulações gastrintestinais e o controlo de doenças alérgicas como asma, eczema atópico, rinite alérgica, alergias a alimentos.

Os mecanismos de acção destes microrganismos probióticos são muito variados e alguns deles não estão totalmente esclarecidos. No entanto, sabe-se que há uma grande interacção entre estes microrganismos e o microbiota intestinal, levando à alteração da sua composição, impedindo a existência de bactérias patogénicas e influenciando a acção do sistema imunológico.

I. As alergias

A alergia é uma doença multifactorial que pode ter diferentes graus de severidade, sendo definida, pela *World Allergy Organization* (WAO) como uma reacção de hipersensibilidade iniciada por mecanismos imunológicos. Esta reacção pode ser mediada por anticorpos ou por células, sendo na grande maioria dos casos os anticorpos responsáveis pela reacção alérgica, do isótipo IgE. Resumidamente, pode dizer-se que a alergia é uma resposta imunológica inadequada.

Nas últimas décadas as doenças alérgicas têm-se tornado um problema de saúde pública. Nas sociedades ocidentais acredita-se que 20 a 30% [2] da população sofre de, pelo menos, uma doença alérgica. Este aumento de incidência de alergias pode ser explicado através de diversas hipóteses, sendo uma das defendidas a “Hipótese Higiénica”, desenvolvida por Strachan (1989) [2]. Esta hipótese defende que a redução de exposição a microrganismos no início da vida e os cuidados de limpeza exagerados têm um impacto negativo no desenvolvimento inicial do sistema imunológico; Strachan defendia que o contacto com microrganismos no início da vida é fundamental para que o sistema imunológico se desenvolva de forma eficaz, prevenindo assim o desenvolvimento futuro de doenças alérgicas.

Outra hipótese defendida para explicar o aumento da incidência de alergias é o “tamanho das famílias”, isto é, actualmente as famílias são, cada vez menos numerosas, levando a que haja uma diminuição do contacto com infecções e parasitas dos irmãos, não havendo um desenvolvimento do sistema imunológico contra estes microrganismos como se verificava em famílias numerosas em que havia o contacto entre os diversos membros da família. Estas duas hipóteses têm em comum o facto de considerarem que o contacto com os microrganismos é importante para o desenvolvimento positivo do sistema imunológico, contribuindo assim para a redução do número de alergias.

Para além das hipóteses apresentadas há ainda a considerar outros factores que podem levar à predisposição para o desenvolvimento de alergias. Exemplo disso são os factores genéticos, e acredita-se que filhos de pais que sofram de alergias têm muito maior probabilidade de desenvolver este tipo de problemas. A utilização exagerada de antibióticos precocemente e a não amamentação podem ser factores para que haja maior susceptibilidade do sistema imunológico ao desenvolvimento de doenças alérgicas. [2]

Todas estas hipóteses mostram que a indução da tolerância a alérgenos é mais eficaz com a exposição do que com a restrição, como se pensava há uns anos atrás.

Apesar de a alergia ser um problema que tem um mecanismo base, existem diferentes tipos de alergias, desde rinite alérgica, conjuntivite alérgica, sinusite, asma, eczema atópico, anafilaxia, alergia a alimentos, urticária e até a alergia a medicamentos, agentes biológicos e insectos [3]. Estas alergias podem ter diferentes níveis de gravidade nos indivíduos tendo umas maior impacto no seu dia-a-dia do que outras.

A prevenção de doenças alérgicas é algo que está ainda em discussão uma vez que os métodos pensados e testados têm sido ineficazes. Acredita-se que desenvolver tolerância a alérgenos comuns em fases iniciais da vida é uma chave importante para prevenir o desenvolvimento de doenças alérgicas.

Diagnosticar uma doença alérgica é um processo complexo e que pode ser demorado, sendo a história clínica e os exames físicos a primeira etapa do processo. A associação temporal entre o aparecimento dos sintomas e o contacto com o alérgeno são a base para o desenvolvimento de mais testes, como testes feitos na pele e testes *in vitro*.

1.1 Mecanismo da alergia

Como já foi referido, a alergia é uma resposta imunológica inadequada em que o sistema imunológico identifica substâncias, que são, normalmente toleradas, como estranhas. O mecanismo da alergia (figura 1) ainda não é totalmente compreendido, no entanto, sabe-se que, basicamente, ocorre em duas fases: a primeira, considerada a fase de sensibilização e a segunda, a fase alérgica. [3]

Na fase de sensibilização ocorre o primeiro contacto entre o sistema imunológico e o alérgeno, este contacto ocorre, principalmente, por inalação ou ingestão. Após a entrada da substância considerada estranha no organismo, há o reconhecimento desta por células apresentadoras de antígenos, os macrófagos, que se encontram em grande quantidade na pele e mucosas. Os macrófagos depois de contactarem com o alérgeno apresentam-no às células T helper (Th), fazendo com que estas passem de Th naive a células Th 2 (em indivíduos com predisposição genética para tal). Estas células Th 2 caracterizam-se por produzir diferentes citocinas específicas, as interleucinas, IL-4, IL-5, IL-13 e IL 25 e são as citocinas IL- 4 e IL – 13 que vão ser responsáveis pela produção do anticorpo característico das alergias, IgE, pelos linfócitos B. No organismo de um indivíduo com doença alérgica são

produzidos tantos tipos diferentes de IgE quantas substâncias alergénicas esse indivíduo tenha contactado, isto porque, estes anticorpos são específicos de cada alérgeno.

A diferenciação das células Th naive em Th2 e a acção das citocinas produzidas pelas células Th2, pode ser contrariada por outras células Th como as Th1 e Th reg (reguladoras). Por exemplo, o INF- γ , citocina produzida pelo Th1 e outras produzidas pelo Th reg inibem tanto a diferenciação das células Th2 como a acção das suas citocinas, o que faz com que o mecanismo da alergia não seja tão evidente. A exposição ambiental a estimulantes das células Th 1 tem diminuído e isto leva a um aumento da incidência de alergias [4].

Os anticorpos IgE produzidos, nesta fase de sensibilização, passam depois para a corrente sanguínea e ligam-se a mastócitos presentes na pele e mucosas. Esta memória é gravada no organismo, durante vários anos, através dos linfócitos T.

Esta primeira fase do processo alérgico é silenciosa e não apresenta sintomas.

A fase alérgica, segunda fase deste processo, ocorre quando há um segundo contacto do sistema imunológico com a substância. Nesta fase, quando há a entrada do alérgeno, os anticorpos IgE, ligados aos mastócitos, capturam o alérgeno e provocam a desgranulação dos mastócitos, isto é, levam à libertação de grânulos que contém várias substâncias químicas, entre elas a histamina. É a libertação da histamina, a sua dispersão e actuação nos diferentes sistemas que vai provocar os principais sintomas da alergia.

No nariz, a histamina estimula as terminações nervosas provocando os espirros e o prurido, aumenta a permeabilidade vascular o que origina o edema e a obstrução nasal e estimula também as secreções glandulares (coriza). Ao nível da pele, a histamina vai provocar vasodilatação, aumento de permeabilidade vascular e estimulação das terminações nervosas, podendo dar origem a eritema, edema e prurido. A tosse, que surge devido à broncoconstrição, deve-se à actuação da histamina nos pulmões. [5]

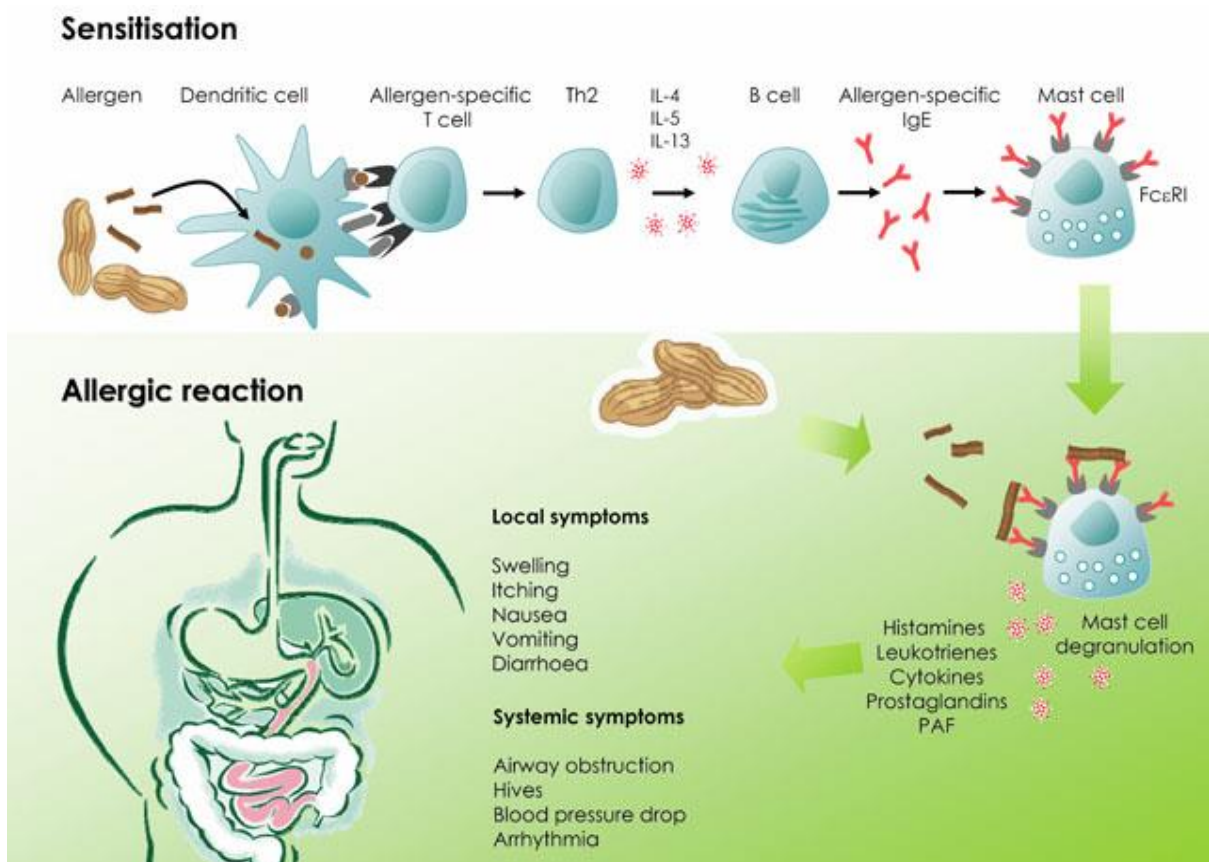


Figura I: Mecanismo da alergia: fase de sensibilização e fase alérgica
(Adaptado de: [6])

1.2 Tratamento comum da alergia

A terapêutica de cada doente que sofre de alergias deve ser uma combinação personalizada de diversas intervenções que podem englobar farmacoterapia, imunoterapia e educação do próprio doente (figura 2). É importante que o doente que tem alergias saiba quais os alérgenos a que é sensível e os tente evitar, evitando toda a cascata que se inicia após o contacto com o alérgeno (mecanismo A, figura 2).

No que diz respeito à farmacoterapia, os medicamentos mais utilizados para o tratamento da alergia são os anti-histamínicos, glucocorticóides, descongestionantes, anti-leucotrienos, broncodilatadores e anti-colinérgicos [7]. Os últimos grupos referidos, broncodilatadores, anticolinérgico e anti-leucotrienos (mecanismo B, figura 2) são destinados, principalmente, a situações de asma alérgica, não sendo, normalmente, utilizados noutras situações de alergias menos intensas.

O grupo de medicamentos mais utilizado é o grupo dos anti-histamínicos H1. Estes bloqueiam, selectiva, reversível e competitivamente, o receptor H1 da histamina (mecanismo C, figura 2), uma vez que, apresentam semelhança estrutural com esta molécula. Desta forma, estes fármacos conseguem evitar que se desencadeiem os efeitos associados à libertação de histamina no organismo quando há contacto com o alérgeno, como os espirros, olhos lacrimejantes, urticária e tosse seca.

Dentro do grupo dos fármacos anti-histamínicos existem diferentes classificações, podendo estes ser anti-histamínicos de primeira geração, ou de segunda geração. Os dois grupos apresentam estrutura diferente, podendo dar origem a diferentes efeitos no organismo. O efeito sedativo que se verifica com os anti-histamínicos de primeira geração, acontece, como um efeito secundário não desejável, uma vez que estes são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica, não acontecendo o mesmo com os anti-histamínicos de segunda geração porque não têm esta capacidade. No entanto, ambos os grupos actuam pelo mesmo mecanismo, bloqueando os receptores H1 da histamina. Deste grande grupo de agentes terapêuticos, fazem parte fármacos como a hidroxizina (1ª geração) e a loratadina e cetirizina (2ª geração).

Outro grupo de fármacos utilizado em situações de alergia é o grupo dos glucocorticóides. Estes actuam como anti-inflamatórios (mecanismo D, figura 2), de forma a reduzir a inflamação associada aos processos alérgicos. Os glucocorticóides são utilizados, principalmente, por via nasal, permitindo atingir altas concentrações de fármaco nos

receptores da mucosa nasal com mínimos efeitos sistêmicos. Os glucocorticóides nasais são dos fármacos mais eficazes a reduzir os sintomas de rinite alérgica.

Podem também utilizar-se glucocorticóides orais, no entanto, esta utilização deve ser feita com algum cuidado e durante tempo reduzido, uma vez, que pode interferir com a produção natural das hormonas no organismo e levar ao aparecimento de efeitos secundários desagradáveis.

Os descongestionantes nasais são utilizados, essencialmente, para aliviar a obstrução nasal que surge como consequência das alergias, não melhorando o prurido, os espirros e o corrimento nasal.

Apesar de todas as opções terapêuticas que existem para o tratamento da alergia a WAO defende que é importante que exista uma regra internacional que sustente o tratamento semelhante para todos os doentes, e que a investigação de novas terapias é fundamental. [7]

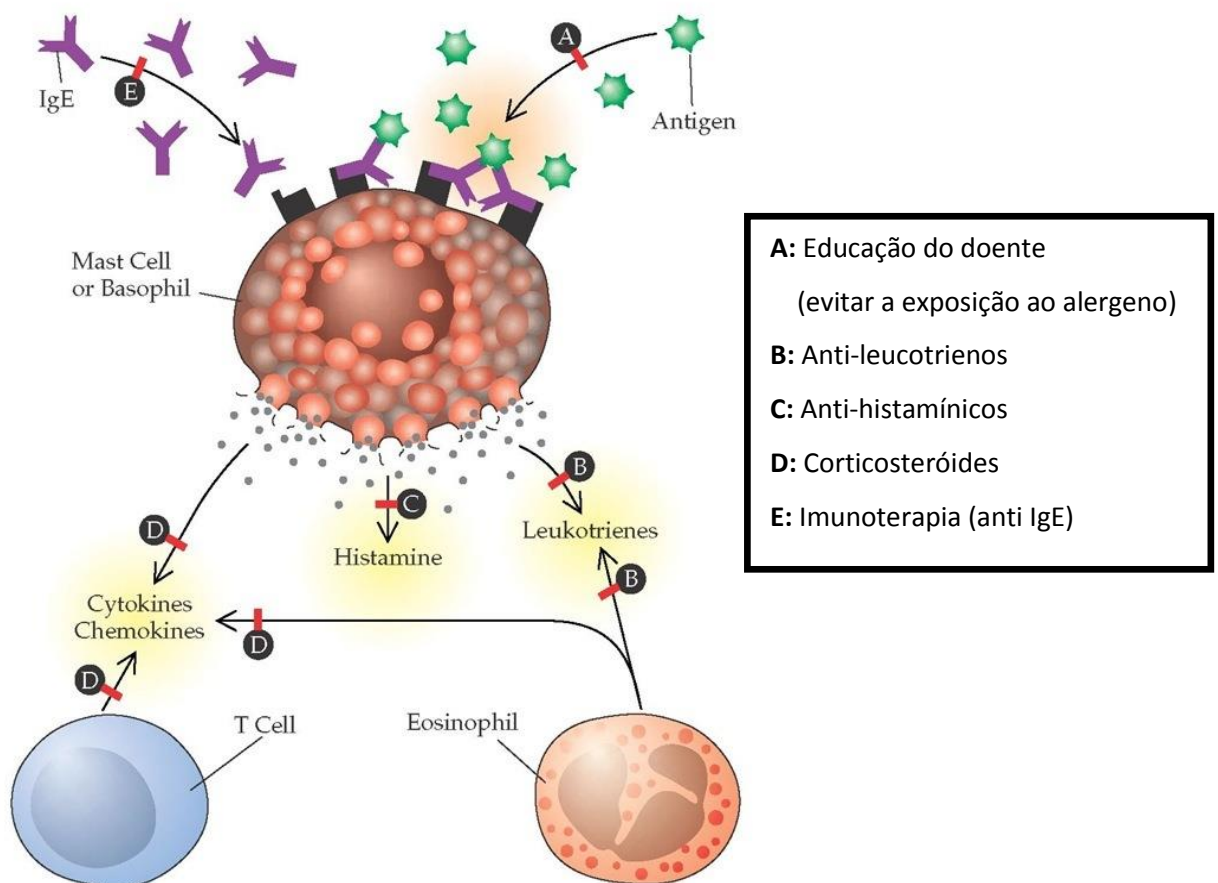


Figura 2: Mecanismo de ação dos tratamentos utilizados em alergias
(Adaptado de: [8])

2. Microbiota Intestinal

2.1 O que é o microbiota intestinal

Quando falamos de probióticos é importante falar de microbiota intestinal, uma vez que, este tem um papel fundamental na fisiologia do ser humano e interage directamente com os probióticos, dado que se encontram no mesmo habitat.

A definição de Microbiota diz-nos que é um conjunto de microrganismos de um habitat específico ou de um período geológico determinado. [9] Assim, podemos perceber que o ser humano, como ser que vive com inúmeros microrganismos, é colonizado por várias microbiotas em locais específicos, por exemplo, microbiota bucal, microbiota vaginal e microbiota intestinal.

O microbiota intestinal representa, no início de vida do ser humano, a exposição mais significativa a microrganismos, uma vez que é constituído por cerca de 10^{15} microrganismos de 1000 espécies diferentes, sendo as mais comuns Bifidobactérias e Lactobacilos. [2]

A colonização intestinal por estas bactérias comensais ocorre a partir do nascimento e continua durante o primeiro ano de vida, altura em que estabiliza, e é influenciada por diversos factores, nomeadamente, o tipo de parto, sendo que o parto natural favorece este crescimento, o microbiota da mãe, factores genéticos, alimentação nos primeiros dias de vida e factores ambientais. O microbiota intestinal é diferente de pessoa para pessoa e pode mesmo variar ao longo da vida, dependendo do estado de saúde, da medicação que se toma, de factores ambientais, do tipo de dieta e da idade (figura3).

A existência do microbiota intestinal traz alguns benefícios ao hospedeiro como:

- ajuda a fazer a digestão de certos alimentos;
- controla o crescimento das células epiteliais;
- ajuda a combater agressões de outros microrganismos patogénicos, mantendo a integridade da mucosa intestinal;
- desempenha um papel importante no desenvolvimento do sistema imunológico;

Consegue, então, perceber-se que o microbiota do tracto gastrointestinal tem um papel fundamental no desenvolvimento anatómico, fisiológico e imunológico do hospedeiro. A acção que tem sobre o sistema imunológico faz com que o organismo consiga responder rapidamente contra infecções e consiga inibir o crescimento de bactérias patogénicas. [10]

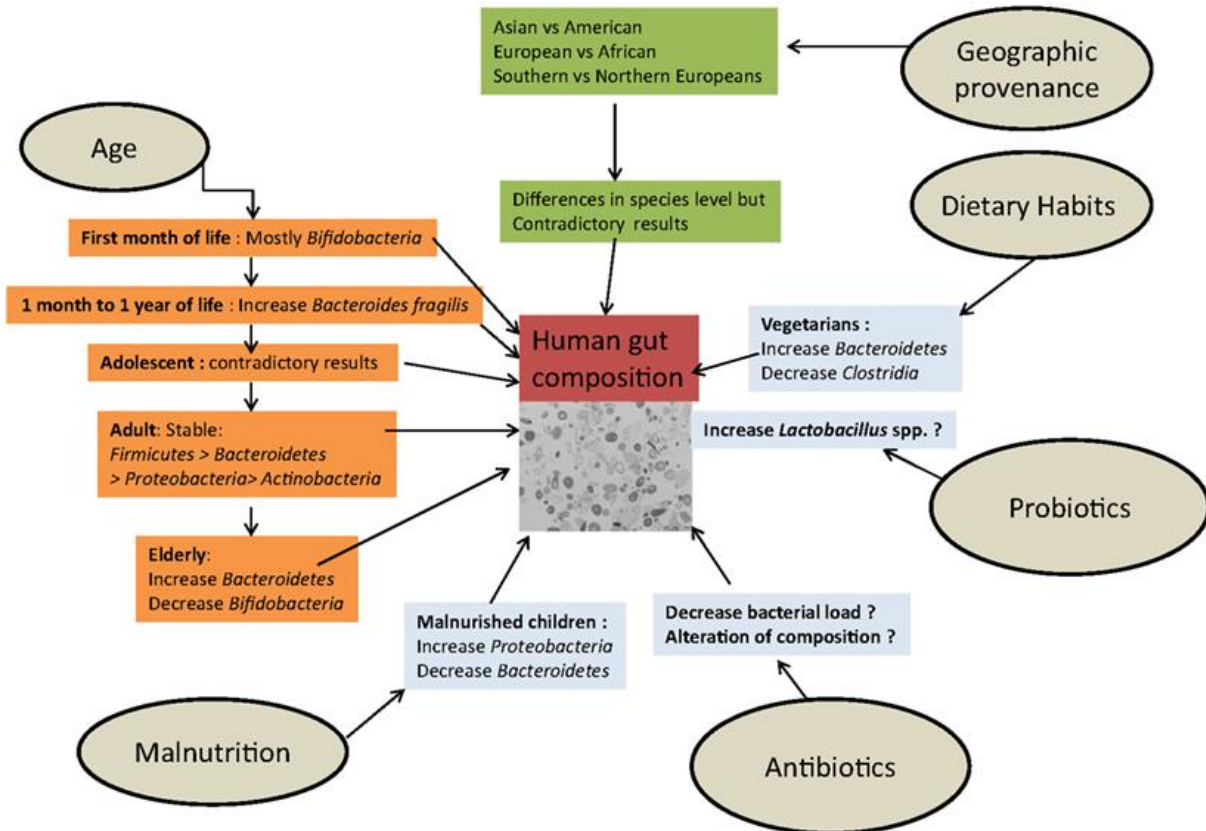


Figura 3: Factores externos que influenciam a composição do microbiota intestinal
(Adaptado de: [11])

2.2 Microbiota intestinal e o sistema imunológico

A importância da microbiota intestinal no desenvolvimento do sistema imunológico consegue entender-se fazendo estudos com animais em que a microbiota não é tão desenvolvida ou é mesmo inexistente, animais *germfree* (GF). Estes animais apresentam um baço formado incorrectamente, um número reduzido de células produtoras de IgA, baixos níveis de citocinas, placas de Peyer pequenas e pouco numerosas e reduzida concentração de imunoglobulinas circulantes. [12]

É fácil entender a influência que a microbiota intestinal tem no desenvolvimento do sistema imunológico ao nível da mucosa, uma vez que, esta representa a maior área que contacta com os microrganismos do ambiente externo e tem um papel fundamental no reconhecimento e apresentação de antígenos a células com receptores específicos como os Toll-like receptores (TLR). Do sistema imunológico da mucosa fazem parte o tecido linfóide

associado ao intestino (GALT), placas de Payer e células do sistema imunológico na lâmina própria do intestino.

Um exemplo que comprova a importância do microbiota intestinal no desenvolvimento do sistema imunológico diz respeito a animais GF que apresentam uma deficiência no desenvolvimento de células T CD4. Esta deficiência pode ser, completamente, reversível tratando estes animais com *Bacteroides fragilis*, uma vez que, este induz a proliferação de linfócitos T CD4. Esta proliferação é conseguida pelo reconhecimento do probiótico, pelas células dendríticas, e com consequente apresentação aos linfócitos T imaturos. [13]

Este exemplo mostra-nos que, a exposição, a apenas uma espécie do microbiota intestinal, promove a maturação sistema imunológico na mucosa e mesmo a nível sistémico.

Outros membros do microbiota intestinal têm mostrado ter influência no desenvolvimento do sistema imunológico, exemplo disso, são alguns membros de *Lactobacilliusi spp.*, que mostraram que são capazes de regular células dendríticas e consequentemente influenciam o balanço Th1 / Th2. [13]

Os exemplos apresentados são elucidativos da importância que o microbiota representa para o sistema imunológico. Para além desta função o microbiota consegue ainda fortalecer o sistema imunológico inato e adaptativo do hospedeiro, tendo um papel fundamental na sua fisiologia e estado de saúde.

3. Probióticos

3.1 Probióticos - Evolução histórica

O primeiro conceito relacionados com probióticos surgiu há um século atrás, com Eli Metchnikoff, quando este observou que, o consumo regular de bactérias produtoras de ácido láctico (BAL) em produtos fermentados, como iogurtes, trazia benefícios para a saúde e levava à longevidade. Eli Metchnikoff, mostrou que era benéfico modificar o microbiota intestinal de forma a substituir os micróbios proteolíticos por microrganismos inofensivos e desenvolveu uma dieta com leite fermentado, que acreditava que baixava o pH intestinal e suprimia o crescimento de bactérias proteolíticas. [2]

Mais tarde, também Henry Tissier desenvolveu trabalhos com temas que se aproximavam bastante do conceito de probiótico. Isolou, pela primeira vez, *Bifidobacteria*, a que chamou *Bacillus bifidus communis*, de um lactente que era amamentado e postulou que as bifidobactérias eram benéficas, uma vez que, impediam a acção das bactérias proteolíticas que provocavam a diarreia. Tissier recomendou a administração de bifidobactérias aos lactentes que sofriam de diarreias. [14]

Apesar destes dois conceitos se aproximarem bastante do conceito de probiótico, foi em 1965 que surgiu, pela primeira vez, o termo Probiótico, definido por Lilly e Stillwell, e que se referia a um factor de origem microbiológica que estimulava o crescimento de outros microrganismos. [14]

Em 1989, este conceito foi reforçado por Roy Fuller, que acrescentou a ideia de que os probióticos têm um efeito benéfico para o hospedeiro. [14]

3.2 O que são probióticos

Hoje, a *World Gastroenterology Organisation*, define probióticos como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades apropriadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro.” As bactérias probióticas devem cumprir alguns critérios de forma a conseguirem exercer os melhores efeitos e a serem consideradas probióticos ideais, tabela I.

Característica	Vantagem
Ambiente local intestinal	Resistência ao pH, bílis e enzimas digestivas
Adesão às células epiteliais	Prevenir a adesão de patogéneos ou antigénios alimentares
Origem humana	Aumento da probabilidade de eficácia biológica
Actividade anti-microbiana	Toxicidade contra bactérias nocivas, vírus, fungos e parasitas
Segurança	Boa tolerabilidade, importante para utilização clínica

Tabela I: Características de um probiótico ideal

(Adaptado de: [2])

Os probióticos podem estar presentes em vários produtos como alimentos, suplementos dietéticos e medicamentos. Os géneros mais utilizadas como probióticos incluem *Lactobacillus* sp. e *Bifidobacterium* sp. Por vezes é também utilizado a levedura *Saccharomyces cerevisiae* e algumas espécies de *Escherichia coli* e algumas espécies de *Bacillus* sp..

A grande maioria dos probióticos são BAL, isto é, são bactérias Gram positivo não patogénicas, não produtoras de produtos tóxicos, que se caracterizam por, a partir de hidratos de carbonos, produzir ácido láctico, tornando-se úteis para a fermentação dos alimentos.

Para serem considerados efectivos, os probióticos devem obedecer a alguns critérios e ter algumas características próprias, nomeadamente:

- Capacidade de sobreviver ao longo do tracto gastro intestinal;
- Aderir ao epitélio intestinal e colonizar;
- Estabilidade;
- Capacidade de utilizar os nutrientes provenientes de dietas normais;
- Não ser patogénicos, nem tóxicos;
- Capacidade de produzir um efeito benéfico no hospedeiro;
- Estabilidade durante o processamento, armazenamento e transporte;
- Características anti-inflamatórias, antimutagénicas e imunoestimulantes [15]

3.3 Probióticos no mercado

Como já foi referido, os microrganismos probióticos podem existir em diferentes formas. Em Portugal, existem probióticos disponíveis tanto na forma de alimento, como suplemento alimentar e mesmo como medicamento, estando disponíveis em supermercados, ervanárias e farmácias.

Os probióticos mais consumidos são os que estão na forma de alimento como iogurtes, leites fermentados e queijos; no entanto, há ainda exemplos de microrganismos probióticos na forma de medicamento, como *Saccharomyces boulardii* (UL-250), *Lactobacillus casei* (Antibiophilus) e *Lactobacillus acidophilus* (Lacteol), que são muito utilizados. Estes medicamentos fazem parte do grupo suplementos enzimáticos, bacilos lácteos e análogos e utilizam-se, principalmente, em situações de perturbações gastrointestinais para restabelecer a flora intestinal.

Os suplementos alimentares, que contêm microrganismos probióticos, estão presentes, principalmente, em Ervanárias e lojas de Produtos Naturais e contêm diferentes espécies de microrganismos. Por exemplo, Atyflor, um suplemento que está presente também em farmácias é constituído por sete espécies de probióticos e é utilizado para restabelecer a flora intestinal normal do intestino.

3.4 Produção de probióticos

A primeira coisa a ter em conta quando se fala da produção de probióticos é que estes, como a definição refere, são organismos vivos, característica que faz com que o processo de produção seja diferente da maioria dos produtos de consumo. A eficácia do probiótico depende da fisiologia e da actividade dos organismos que dele fazem parte e, por isso, no processo de produção é fundamental, manter todas as características do microrganismo intactas.

Todo o processo de produção das bactérias, utilizadas como probióticos (Figura 4), inicia-se com a etapa de amplificação. Nesta etapa, estirpes de bactérias de colecção, são colocadas em recipientes próprios, com meio adequado, em ambiente estéril, ficando activas e iniciando a sua multiplicação.

Após esta fase de multiplicação, a pureza e qualidade do inóculo são testadas, e este é transferido, em condições estéreis, para um fermentador, onde as condições de crescimento são, rigorosamente, controladas (pH, temperatura, pressão). No fermentador cada estirpe segue o seu padrão normal de crescimento, no geral, a curva de crescimento dos microrganismos apresenta uma fase exponencial, seguida de uma fase estacionária e uma de declínio. O objectivo desta etapa de crescimento no fermentador é interromper a fermentação quando as bactérias estiverem na sua actividade máxima, de forma a ter o melhor rendimento possível.

A colheita é a terceira etapa do processo. Nesta, as bactérias são separadas do meio de cultura através de uma centrifugação, obtendo uma concentração elevada de bactérias que segue para a etapa seguinte, a liofilização.

A liofilização é o melhor método para manter a estabilidade bacteriana. Neste processo o produto é submetido a uma temperatura muito baixa e a água restante é removida por sublimação a baixa pressão. Este processo é delicado para bactérias que são sensíveis a temperaturas baixas, podendo afectar a sua estabilidade final.

Após a liofilização as bactérias formam um produto sólido, com uma quantidade mínima de água, que segue para a fase de moagem, mistura e acondicionamento. Nestas fases é importante um controlo rigoroso da temperatura e da humidade.

Todo o processo de produção de bactérias deve ser controlado, passo a passo, para que se garanta que não há contaminações e que a bactéria se mantém pura, viva e nas melhores condições. É fundamental que haja um controlo apertado neste processo para que, no final, a bactéria que está indicada no rótulo seja a mesma que está presente no probiótico. [16]

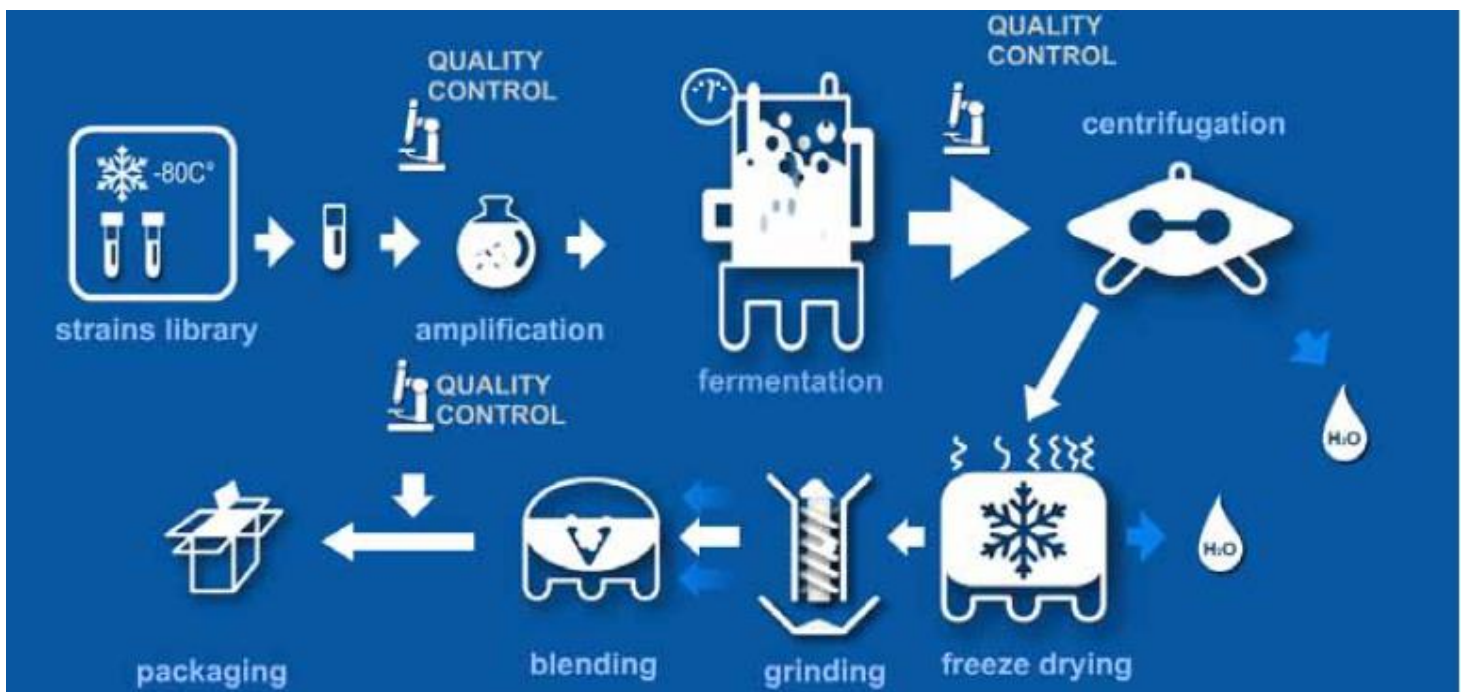


Figura 4: Etapas de produção de probióticos
(Adaptado de: [16])

3.5 Mecanismos de acção dos probióticos

Os probióticos actuam no organismo por diversos mecanismos, tendo todos eles como base a competição com bactérias patogénicas e o favorecimento do crescimento de bactérias benéficas ao ser humano. Isto é, todos os mecanismos levam à protecção da saúde do hospedeiro, influenciando o sistema imunológico. [17]

Os mecanismos de actuação dos probióticos podem dividir-se em:

a) Competição por sítios de ligação ou exclusão competitiva

Os probióticos são capazes de modular a composição do microbiota intestinal, isto é, quando adicionados à dieta, os microrganismos probióticos, que passam a predominar, aderem ao epitélio intestinal e impedem a ligação de bactérias patogénicas, funcionando como uma barreira e prevenindo, assim, a invasão pelas bactérias patogénicas.

Além disto, os microrganismos probióticos, têm maior capacidade de capturar e metabolizar nutrientes do que as bactérias patogénicas, fazendo com que estas fiquem com condições fisiológicas restritas para crescer e multiplicar-se, favorecendo, desta forma, o desenvolvimento dos microrganismos probióticos.

Este mecanismo mostra-nos que os microrganismos probióticos têm a capacidade de competir com as bactérias patogénicas para os locais de adesão no epitélio intestinal, de forma a evitar que os microrganismos patogénicos se fixem livremente, protegendo as vilosidades e evitando a absorção de patógenos. [17]

b) Produção de substâncias antibacterianas e enzimas

Os probióticos são capazes de produzir várias substâncias que têm capacidade de inibir o crescimento de bactérias ou de destruí-las, principalmente, patogénicas. Estes compostos produzem bacteriocinas, isto é, produzem proteínas bacterianas com actividade inibitória contra outras bactérias, possibilitando a destruição de eventuais bactérias patogénicas presentes no microbiota.

Por exemplo, a bactéria *Lactococcus lactis* produz uma bacteriocina, chamada nisina, que é capaz de destruir várias bactérias como *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium difficile* e *Bacillus cereus*. [18]

Quando os microrganismos probióticos são BAL, produzem ácidos orgânicos, como o ácido propiónico, acético, butírico e láctico que fazem com que as bactérias patogénicas tenham ainda mais dificuldade em aderir ao epitélio intestinal, favorecendo a adesão dos microrganismos probióticos.

Há ainda outro factor que contribui para a destruição das bactérias patogénicas pelos probióticos. Estes, enquanto produtores de ácidos orgânicos produzem ácido láctico e propiónico, levando à redução do pH do meio e, conseqüentemente, à potencial inibição das bactérias patogénicas. [17]

c) Efeito nutricional

A competição por nutrientes específicos por parte das bactérias do lúmen intestinal é uma constante. No caso de estarem presentes microrganismos probióticos e patogénicos esta competição vai ser ainda mais evidente, uma vez que, a quantidade de nutrientes que ficam disponíveis vai ser um factor limitante no desenvolvimento, crescimento e manutenção das bactérias patogénicas, contribuindo para que estas se tornem mais escassas no intestino.

Outro efeito produzido pelos probióticos é devido à capacidade que estes têm de influenciar a permeabilidade do intestino, tornando mais eficiente a absorção e digestão de alguns nutrientes.

Além disto, os microrganismos probióticos, evitam que as bactérias patogénicas utilizem aminoácidos e hidratos de carbono para fermentação e produção de toxinas que seriam prejudiciais ao ser humano. [17]

d) Estimulação do sistema imunológico

Os probióticos, quando adicionados à dieta, são considerados estimuladores do sistema imunológico, uma vez que, actuam auxiliando a imunidade da mucosa intestinal, aumentando a actividade de macrófagos e, conseqüentemente, aumentando a produção de anticorpos.

Ferreira e Astolfi-Ferrera [17], demonstraram que as bactérias probióticas conseguem modular a resposta imune sistémica do hospedeiro, pelo aumento do número de células fagocíticas e também pelo aumento da sua actividade. Outros autores corroboram esta ideia evidenciando que, este fenómeno acontece devido à capacidade que os probióticos têm de

interagir com as placas de Peyer e com as células intestinais, estimulando as células B, que são produtoras de IgA, e a migração de células T.

Menten, [17] observou que bactérias intestinais como Lactobacilos e Bifidobacterias estão relacionadas com a estimulação da resposta imunológica, devido ao aumento da produção de anticorpos, activação de células T e produção de Interferons. Os Lactobacillus também conseguem modular a resposta imunológica através do estímulo de secreção de citocinas.

Ao adicionar probióticos à dieta estes vão ser transferidos, a partir de células M, para os linfócitos intra-epiteliais, funcionando como antigénios que estimulam os plasmócitos a secretar IgA.

Carlos *et al.* (2003) [17] referem que, a ingestão de BAL, aumenta a resistência a infecções por microrganismos patogénicos, devido ao aumento na activação de macrófagos e linfócitos, à produção de anticorpos e devido à resposta proliferativa no baço e placas de Peyer. [17]

4. Probióticos no tratamento de alergias

Como já foi referido, os probióticos actuam no organismo por diversos mecanismos e apesar de nem todos estarem directamente relacionados com o sistema imunológico, acabam por influenciá-lo e têm algum impacto no tratamento e prevenção de alergias.

Ao influenciar a composição do microbiota intestinal, através da competição por nutrientes, locais de ligação a células epiteliais e através da redução do valor de pH do meio, os probióticos conseguem reduzir o número de bactérias patogénicas que invadem o organismo do hospedeiro, diminuindo, assim, o número de possíveis alérgenos que contactam com o organismo.

Uma vez que, muitos dos processos alérgicos são acompanhados de processos inflamatórios, há outra acção dos probióticos importante para contrariar este efeito, pois os probióticos conseguem, a partir da fermentação de fibras da dieta, produzir ácidos gordos de cadeia curta (AGCC), que vão ter um papel importante, tanto como anti-inflamatórios, como moduladores das funções epiteliais. Por exemplo, o ácido butírico, um AGCC, consegue modular a expressão de algumas tight junction proteins, contribuindo para promover a integridade da barreira epitelial. [2]

Outra capacidade muito importante que os probióticos têm e que é fundamental para o tratamento da alergia é a de modular o balanço entre Th1/Th2. Estudos [19] demonstraram que, crianças que utilizavam probióticos na sua dieta tinham valores mais reduzidos de Th2 (factor desencadeador de alergias) e conseqüentemente tinham valores mais baixo de IL-4 e IL-5, diminuindo os valores de IgE no organismo.

Outros estudos [20] demonstraram ainda que os probióticos conseguem exercer efeito na secreção de Th reg, células que têm um papel fundamental na regulação do mecanismo da alergia; a utilização de probióticos estimula o TGF- β a secretar Th reg.

Para além disto os microrganismos probióticos têm ainda a capacidade de estimular a secreção de IgA pela mucosa intestinal, imunoglobulina fundamental para o processo imunológico da mucosa e de estimular respostas específicas pelas células B e T.

Em resumo, os probióticos podem ter potencial utilização no tratamento de alergias (figura 5) porque:

- ✓ Promovem a degradação ou modificação da estrutura antigénica de antigénios entéricos;
- ✓ Normalizam as propriedades do microbiota intestinal e da barreira intestinal;
- ✓ Regulam a secreção de mediadores inflamatórios e estimula o sistema imunológico;
- ✓ Previnem alergias alimentares porque melhoram a acção de barreira intestinal
- ✓ Diminuem a inflamação intestinal;
- ✓ Influenciam a resposta imunológica e diminuem os níveis séricos de IgE;
- ✓ Diminuem a resposta alérgica mediada pelo Th2 [15]

Vários estudos têm demonstrado que os probióticos podem, de facto, ter um papel importante na prevenção de doenças alérgicas. Por exemplo, Kalliomaki et al. realizaram um ensaio clínico para testar o efeito dos probióticos na prevenção primária do eczema atópico. Para isso seleccionaram 159 mães para receber *Lactobacillus GG* (LGG) ou placebo, diariamente, durante 4 semanas antes da data prevista do parto. Após o parto, continuaram a tomar o placebo ou LGG durante 6 meses.

Os resultados mostraram que, nas crianças com 2 anos, a frequência de eczema atópico, no grupo que utilizou LGG era metade da do grupo que utilizou o placebo; aos 7 anos este resultado mantinha-se e o risco de desenvolvimento de eczema atópico nas crianças que tinham utilizado o placebo era superior ao das que tinham utilizado LGG. [21]

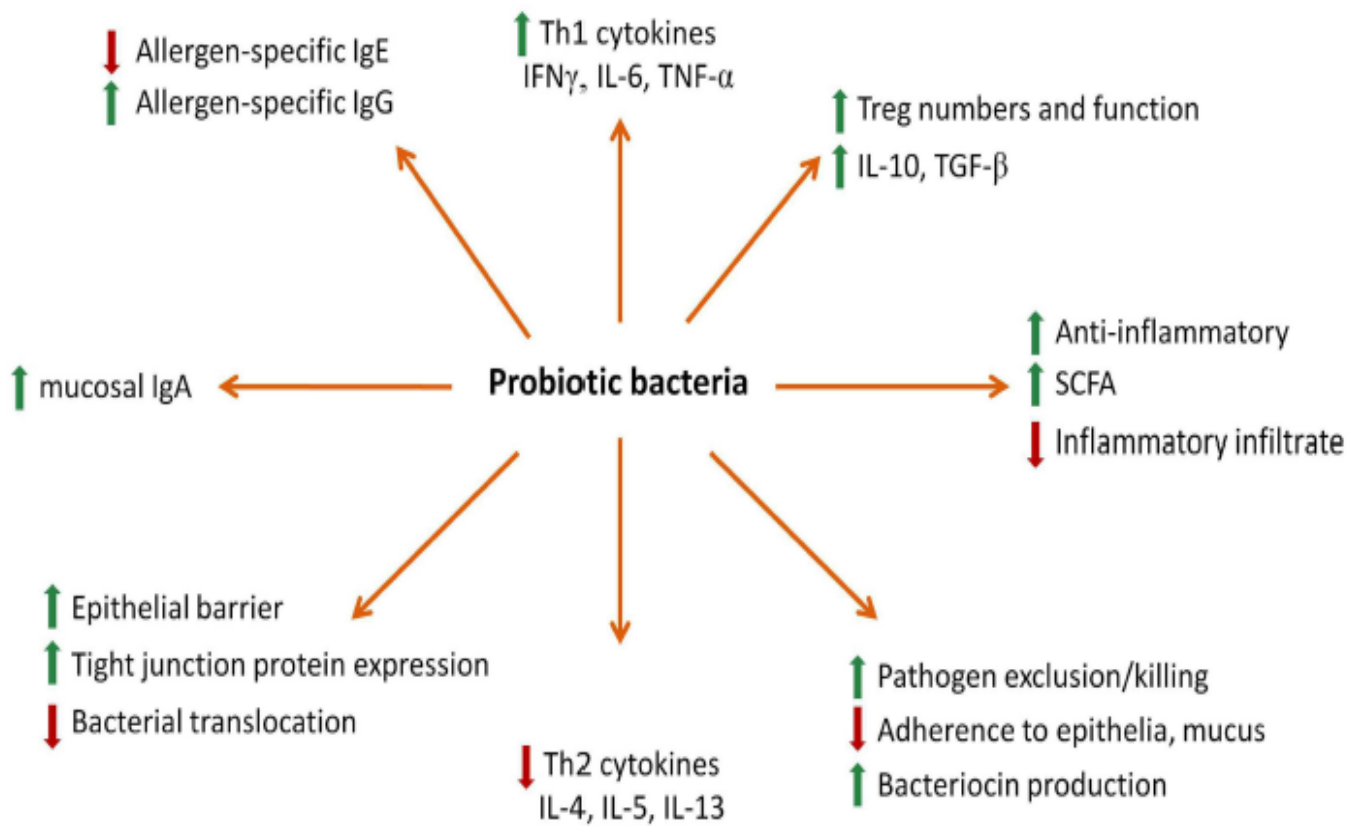


Figura 5: Mecanismo de acção dos Probióticos
(Adaptado de: [2])

Conclusão

As alergias, com todos os sintomas que lhes estão associados, têm um grande impacto no dia-a-dia das pessoas, daí que seja importante investigar novas estratégias que possam diminuir a sua incidência na população.

É importante perceber que todas as medidas de higiene utilizadas, actualmente, com os bebés, levam a que o sistema imunológico não se desenvolva da melhor forma e que no futuro seja mais frágil e sensível a antígenos que, para muitas pessoas, são inofensivos. O contacto com outras crianças, com animais e o dia-a-dia em locais públicos é fundamental para que as crianças consigam desenvolver um sistema imunológico forte, capaz de actuar de forma correcta contra todos os antígenos.

Na procura de alternativas para o tratamento e prevenção de alergias, os probióticos surgem como mais uma alternativa às terapêuticas já existentes, pela grande influência que exercem na composição do microbiota intestinal e no desenvolvimento do sistema imunológico, tanto a nível da mucosa intestinal como a nível sistémico. No entanto, é necessário educar as pessoas para esta realidade, uma vez que muitas não sabem o que são microrganismos probióticos, quais os seus efeitos e onde os encontrar.

É importante que se efectuem mais estudos nesta área para que se consiga entender, com mais detalhe, quais os microrganismos que devem ser utilizados, em que quantidade e a partir de que momento. Isto porque, o efeito que se consegue obter utilizando microrganismos probióticos depende da estirpe que se utiliza, não originando todos os microrganismos o mesmo efeito e os mesmos benefícios. [22]

Existe ainda um problema associado aos probióticos. Uma vez que estes são organismos vivos, exigem um processo de produção complexo que requer alguns cuidados de forma a manter todas as características naturais dos microrganismos. Isto faz com que o seu preço de venda seja elevado, não estando acessíveis a todas as pessoas que sofrem destes problemas.

No futuro, os probióticos poderão vir a ser utilizados com mais frequência, não só para o tratamento e prevenção de alergias mas também no dia-a-dia, uma vez que os benefícios da sua utilização são bastantes. Para isso, é necessário que sejam efectuadas mais investigações nesta área e que haja maior divulgação deste assunto perto das pessoas.

Bibliografia

- [1] **Me, myself, us.** The Economist. (2012) 19
- [2] TOH, Z., ANZELA, A., TANG, M., LICCIARDI, P. - **Probiotic therapy as a novel approach for allergic disease.** Frontiers in pharmacology. 3 (2012) 1-9
- [3] **Mecanismo de acção da reacção alérgica.** Stallergenes, 2012. [Acedido em 6 Abril 2014] Disponível na internet: <http://www.stallergenes.pt..>
- [4] JYONOUCHI, H. - **Autism Spectrum Disorders and Allergy: Observation from a Pediatric Allergy/Immunology Clinic.** Expert Rev Clin Immunol. 3 (2010) 397-411
- [5] PAWANKAR, R., CANONICA, G., HOLGATE, S., LOCKEY, R.- **The white book on Allergy.** World Allergy Organisation (2011). ISBN: 10 0615461824, 107-109.
- [6] **Mechanisms.** Utrcht Center for Food allergy, 2014. [Acedido em 24 Maio 2014] Disponível na internet: <http://ucfa.nl/food-allergy/mechanisms/>
- [7] PAWANKAR, R., CANONICA, G., HOLGATE, S., LOCKEY, R.- **The white book on allergy.** (2011). ISBN: 10 0615461824, 110-111.
- [8] **Diagnostic and Therapeutic Principles in Allergy Part 2.** what-when-how, 2014. [Acedido em 29 Maio 2014] Disponível na internet: <http://what-when-how.com>.
- [9] **Microbiota.** Oxford Dictionaries, 2014. [Acedido em 3 Abril 2014] Disponível na internet: <http://www.oxforddictionaries.com>
- [10] HERICH R., LEVKUT, M. - **Lactic acid bacteria, probiotics and immune system.** Vet Med Czech. 6 (2002) 169-180
- [11] LAGIER, J., MILLION, M., HUGON, P., ARMOUGOM, F., RAOULT, D. - **Human gut microbiota: repertoire and variations.** Frontier in cellular and infection Microbiology. 2 (2012) 1-19
- [12] SEKIROV, I., RUSSEL, S., ANTUNES, C., FINLAY, B. - **Gut Microbiota in Health and Disease.** Physiol Rev. 90 (2010) 859-904
- [13] PURCHIARONI, F., TORTORA, A., GABRIELLI, M., BERTUCCI, F., GIGANTE, G., GIANIRO, G., OJETTI, V., SCARPELLINI, E., GASBARRINI, A. - **The role of intestinal microbiota and the immune system.** Eur Rev Med Pharmacol Sci. 17 (2013) 323-333

- [14] Organização Mundial de Gastroenterologia. **Probióticos e Prebióticos**. Guias práticas da OMGE, (2008) 3-5
- [15] TOKAS, J., GUPTA, D., JAIN, S., YADAV, H.- **Probiotics** (2013).
- [16] CASTEX, M. ; PANES, J.- **Producing probiotics is an art and science**. AQUA Culture Asia Pacific Magazine .8 (2012) 35-37
- [17] BUSANELLO, M., POZZA M., CENCI, P., CHAMBO, A. P., ECKSTEIN5, I. I.- **Probióticos, seus modos de ação e a produção animal**. Scientia Agraria Paranaensis. 11 (2012) 14-24
- [18] BASTOS, M. - **Bacteriocinas: antibiótico do futuro?** [Acedido em 7 Junho 2014] Disponível na internet: <http://www.microbiologia.ufrj.br>
- [19] POCHARD, P., GOSSET, P., GRANCETTE C., ANDRE, C., TONNEL, A., PASTEL, J., MERCENIER, A. - **Lactic acid bacteria inhibit Th2 cytokine production by mononuclear cells from allergic patients**. J Allergy Clin Immunol. 110 (2002) 617-623.
- [20] NIERS, L., MARTIN, R., RIJKERS, G., SENDERS, F., TIMMERMAN, H., SMIDT, H., HOEKSTRA, M. - **The effects og selected probiotic strains on the development of eczema (The Pand A study)**. Allergy. 64 (2009) 1349-1358
- [21] KALLIOMÄKI M., SALMINEN S., POUSSA T., ISOLAURI E. - **Probiotics during the first 7 years of life: a cumulative risk reduction of eczema in randomized, placebo-controlled trials**. J Allergy Clin Immunol. 4 (2007) 1019-1021
- [22] **Pharmabiotic research institute** - netsocial, 2014. [Acedido em 15 Junho 2014] Disponível na internet: <http://www.pharmabiotic.org/immune-system>.
- [23] SANDERS, M., GUARNER, F., GUERRNAT, R., HOLT, P., QUIGLEY, E., SARTOR, R., SHERMAN, P., MAYER, E.- **An update on the use and investigation of probiotics in health and disease**. Gut . 63 (2013) 787-796
- [24] PAWANKAR, R., CANONICA, G., HOLGATE, S., LOCKEY, R., **The white book on allergy** (2011) ISBN: 10 0615461824, 13-15
- [25] NUNES, I.C., - **Novos anti-histaminicos: uma visão crítica**. Jornal de Pediatria. 82 (2006) 173-180
- [26] INFARMED- **Prontuário Terapêutico**, Infarmed, 9ª Ed, 2010, ISBN: 978-989-8369-02-4

- [27] VARAVALLO, M., THOMÉ, J., TESHIMA, E. - **Application of probiotic bacteria for prevention and treatment of gastrointestinal diseases.** Ciências Biológicas e da Saúde. 29 (2008) 83-104