

## OS IMPACTOS CAUSADOS NA MICROBIOTA INTESTINAL PELA INGESTÃO DE LEITE MATERNO OU DE FÓRMULA NA IMUNIDADE DOS LACTENTES

### THE IMPACTS CAUSED ON THE INTESTINAL MICROBIOTA BY THE INGESTION OF BREAST MILK OR FORMULA ON THE IMMUNITY OF INFANTS

Recebido em: 12/03/2024

Aceito em: 12/06/2024

Publicado em: 24/07/2024

Cecília de Andrade Falcão Fernandes Vieira<sup>1</sup>   
Universidade de Pernambuco

Claudinalle Farias Queiroz de Souza<sup>2</sup>   
Universidade de Pernambuco

Laura Luiza Barbosa Menezes da Mota<sup>3</sup>   
Universidade de Pernambuco

Maria Clara Santini Batista<sup>4</sup>   
Universidade de Pernambuco

Sofia Vasconcelos Andrade<sup>5</sup>   
Universidade de Pernambuco

**Resumo:** O estudo teve como objetivo investigar como o leite materno influencia a microbiota intestinal da lactente e evidenciar seu papel no desenvolvimento do sistema imunológico humano. Foi utilizada a abordagem PICO na formulação da pergunta e a pesquisa abrangeu os últimos 10 anos das bases de dados MEDLINE/Pubmed e BVS. Dos 76 artigos identificados após a triagem, 8 atenderam aos critérios de inclusão, sendo gratuitos, originais e escritos em inglês ou português. O estudo evidenciou que oligossacarídeos no leite materno influenciam o crescimento de colônias bacterianas intestinais benéficas, como *Staphylococcus* e *Bifidobacterium* spp. A colonização inicial do intestino de lactentes amamentados é caracterizada pela presença predominante de *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* e *Lactobacillus*. Os resultados destacaram que a amamentação fortalece o sistema imunológico, reduzindo morbidade e mortalidade por infecções, além da redução da inflamação sistêmica. Assim, a amamentação impacta positivamente na saúde a longo prazo, fortalecendo o sistema imunológico e reduzindo incidências de infecções, doenças crônicas e metabólicas. Embora intervenções como BMOS e probióticos também demonstrem benefícios, o leite materno é preferível para estabelecer padrões duradouros na saúde do lactente. O método de parto e o uso de fórmulas também foram identificados como influenciadores no desenvolvimento imunológico.

**Palavras-chave:** microbiota; amamentação; intestino; imunidade; lactente.

**Abstract:** The study aimed to investigate how breast milk influences the infant's intestinal microbiota and highlight its role in the development of the human immune system. The PICO approach was used to formulate the question and the research covered the last 10 years of the MEDLINE/Pubmed and VHL databases. Of the 76

<sup>1</sup> Aluna de Medicina da Universidade de Pernambuco. E-mail: cecilia.fernandesvieira@upe.br

<sup>2</sup> Professora de Medicina da Universidade de Pernambuco. E-mail: claudinalle.souza@upe.br

<sup>3</sup> Aluna de Medicina da Universidade de Pernambuco. E-mail: laura.barbosa@upe.br

<sup>4</sup> Aluna de Medicina da Universidade de Pernambuco. E-mail: clara.santinib@upe.br

<sup>5</sup> Aluna de Medicina da Universidade de Pernambuco. E-mail: sofia.andrade@upe.br

articles identified after screening, 8 met the inclusion criteria, being free, original and written in English or Portuguese. The study showed that oligosaccharides in breast milk influence the growth of beneficial intestinal bacterial colonies, such as *Staphylococcus* and *Bifidobacterium* spp. The initial colonization of the intestine of breastfed infants is characterized by the predominant presence of *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides* and *Lactobacillus*. The results highlighted that breastfeeding strengthens the immune system, reducing morbidity and mortality from infections, in addition to reducing systemic inflammation. Thus, breastfeeding has a positive impact on long-term health, strengthening the immune system and reducing incidences of infections, chronic and metabolic diseases. Although interventions such as BMOS and probiotics also demonstrate benefits, breast milk is preferable for establishing lasting patterns in infant health. The method of birth and the use of formula have also been identified as influencing immune development.

**Keywords:** microbiota; breast-feeding; intestine; Immunity; infant.

## INTRODUÇÃO

A microbiota intestinal do bebê é uma comunidade altamente dinâmica que se molda progressiva e continuamente durante os primeiros dias de vida, sendo a nutrição um dos impulsionadores mais relevantes para a sua composição (BIAGI, *et al.*, 2017). A composição da microbiota intestinal no início da vida influencia a maturação do sistema imunológico humano, podendo ter efeitos duradouros na suscetibilidade a infecções e doenças imunomediadas, como alergias e diabetes (HENRICK, *et al.*, 2021). Nesse período, quaisquer desequilíbrios na composição microbiana podem ter um impacto mais significativo no sistema imunológico em desenvolvimento

A disbiose precoce do microbioma intestinal, marcada pelo aumento excessivo de proteobactérias e pela perda de funcionalidade do ecossistema, está associada a condições comuns, como cólica, atopia, chiado no peito e alergias. Além disso, também pode contribuir para distúrbios menos frequentes, porém mais graves, como diabetes tipo 1 e Doença de Crohn (HENRICK, *et al.*, 2021). A construção progressiva da microbiota dos bebês, especialmente no que diz respeito ao ecossistema intestinal, é um processo crucial para educar o seu sistema imunitário para o delicado equilíbrio entre tolerância e reatividade que é necessário para manter a saúde ao longo de toda a vida humana. Nos bebês amamentados, as mães representam a principal fonte de colonização microbiana (BIAGI, *et al.*, 2017).

A amamentação estabelece uma relação mais saudável entre o sistema imunológico e os micróbios, fornecendo nutrientes a microrganismos especializados que, por sua vez, fortalecem o sistema imunológico do hospedeiro. O leite materno humano contém abundantes oligossacarídeos do leite humano (HMOs) que não são digeríveis pelos humanos, pois não temos as glicosidases necessárias. Em vez disso, a energia materna gasta para criar açúcares tão complexos é justificada fornecendo uma vantagem nutricional seletiva a micróbios “benéficos” especializados em metabolizar HMOs com funções importantes no recém-nascido (HENRICK,

*et al.*, 2021). As espécies anaeróbicas facultativas ou predominantemente aeróbicas, como *Streptococcus* e *Staphylococcus*, são os principais colonizadores do ecossistema do leite humano. Esses grupos bacterianos são frequentemente isolados e abundantes em amostras de leite, junto com contaminantes derivados da pele ou do ambiente, como *Propionibacterium* e gêneros da família *Enterobacteriaceae*. Por outro lado, bactérias como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* são frequentemente recuperadas em estudos moleculares e culturas microbiológicas, sendo caracterizadas como probióticas intestinais bem conhecidas (BIAGI, *et al.*, 2017). A subespécie *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* (*B. infantis*) é uma dessas cepas adaptada para metabolizar os HMOs. A redução dos níveis de *Bifidobacterium* no início da vida, e em particular o esgotamento dos genes necessários para a utilização do oligossacarídeo do leite humano (HMO) do metagenoma está associado à inflamação sistêmica e à desregulação imunológica no início da vida (HENRICK, *et al.*, 2021). Além disso, o sequenciamento de próxima geração também permitiu a detecção de gêneros anaeróbios obrigatórios associados ao intestino, como *Bacteroides*, *Blautia*, *Dorea* e *Faecalibacterium*. Se vivas, estas bactérias mencionadas poderão atuar como pioneiras no intestino infantil para a construção da microbiota intestinal adulta, que começará a se estabelecer no desmame (BIAGI, *et al.*, 2017).

O leite materno está listado entre as primeiras fontes de micróbios para o ecossistema intestinal do bebê, juntamente com a pele, boca e trato vaginal da mãe, no caso do parto vaginal. No cenário de troca microbiana entre mãe e filho, a boca do bebê está inevitavelmente envolvida, sendo o ponto de transição obrigatório para o leite chegar ao trato gastrointestinal. Nesse contexto, o ecossistema oral pode influenciar a colonização intestinal tanto por vias diretas, via deglutição, quanto por vias indiretas, ao contaminar os canais de leite materno durante a sucção (BIAGI, *et al.*, 2017).

Durante os primeiros 6 meses, a amamentação está associada a vantagens para a saúde em comparação com as fórmulas infantis. Com base na sua composição, o leite materno foi categorizado em três fases distintas: colostro, leite de transição e leite maduro. Cada fase apresenta variações na concentração de poliaminas, as quais são superiores ao conteúdo das fórmulas infantis. As poliaminas, compostos policatiônicos presentes em todas as células vivas, recebem atenção especial devido ao seu papel proeminente no leite materno, como fornecer nutrientes essenciais para funções fisiológicas. Uma grande variedade de concentrações de poliamina existe no leite materno humano entre mães diferentes, dependendo de vários fatores,

como idade, raça, obesidade, tipo de alimentação, modo de entrega, parto prematuro e mastite (SUÁREZ, *et al.*, 2019).

Em bebês amamentados exclusivamente, a microbiota intestinal é marcada por um aumento da presença de bifidobactérias, prevenindo inflamações intestinais, reduzindo a ocorrência de diarreia e aliviando sintomas de alergia. Comparativamente, a microbiota intestinal desses bebês mostra uma menor diversidade de colonização e proporções mais elevadas de espécies de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* em relação aos bebês não amamentados (CHIN, *et al.*, 2021). A introdução de alimentos sólidos tem sido associada ao aumento das populações de bacteroides e à diminuição das populações de bifidobactérias, enterobactérias e algumas espécies de *Clostridium*. As variações na microbiota intestinal resultantes da dieta podem influenciar o metabolismo e a função imunológica do hospedeiro. Isso se dá pela regulação de genes relacionados ao metabolismo de lipídios e carboidratos, modulação de funções endócrinas, amplificação das respostas inflamatórias e impacto no equilíbrio energético e no peso corporal (THOMPSON, *et al.*, 2015).

## PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O presente estudo consiste em uma revisão integrativa da literatura com o propósito de identificar, selecionar e avaliar criticamente as evidências científicas relacionadas ao impacto da ingestão de leite materno e da fórmula na microbiota de lactentes. A revisão integrativa é uma abordagem metodológica que se destaca por integrar e sintetizar resultados de diversas pesquisas sobre um tema específico de maneira sistemática, promovendo uma compreensão mais aprofundada do conteúdo investigado (MENDES; SILVEIRA; GALVÃO, 2008). Na síntese da pergunta de pesquisa, foi utilizada a estratégia PICO, um acrônimo para População/Intervenção/Comparação/Outcome, que norteou o plano de busca. Com base nessa metodologia, foi formulada a seguinte pergunta norteadora: é possível que os impactos causados na microbiota pela ingestão de leite materno ou da fórmula reflitam na imunidade dos lactentes?

## CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Os critérios de inclusão definidos foram: artigos publicados entre novembro de 2013 e novembro de 2023, artigos gratuitos, artigos originais, artigos escritos em inglês e português e artigos que se relacionassem com o tema proposto pela revisão, levando em consideração a população.

## CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão definidos foram: artigos no qual o público de estudo não estivesse incluído na faixa etária prevista, artigos pagos, artigos não originais, experimentos em animais, artigos de revisão e artigos que não condizem com o tema do estudo.

## ESTRATÉGIA DE BUSCA

A estratégia de busca foi fundamentada através da verificação dos *Medical Subject Headings* (MESH terms), os quais foram selecionados e posteriormente pesquisados nas plataformas de dados, utilizando os seguintes termos: microbiota, breastfeeding, human milk, intestine, immunity e infant. Portanto, foi desenvolvida a estratégia final de: (microbiota) AND (breastfeeding) AND (human milk) AND (intestine) AND (immunity) AND (infant). Em seguida, foi realizada uma busca preliminar nas seguintes bases de dados: MEDLINE/Pubmed e Biblioteca virtual em Saúde (BVS). Foram escolhidas essas bases de dados pois possuem uma ampla literatura e são referências dentro da área de saúde.

## PUBMED

Utilizando-se a estratégia de busca supracitada, a partir da seleção dos filtros, que incluem artigos publicados nos últimos 10 anos, artigos grátis e artigos em inglês e português foram encontrados 72 artigos.

## BVS

Utilizando a estratégia de busca supracitada, a partir da seleção dos filtros, que incluem artigos publicados nos últimos 10 anos, artigos grátis e artigos em inglês e português, foram encontrados 9 artigos.

## PROCEDIMENTO DE SELEÇÃO

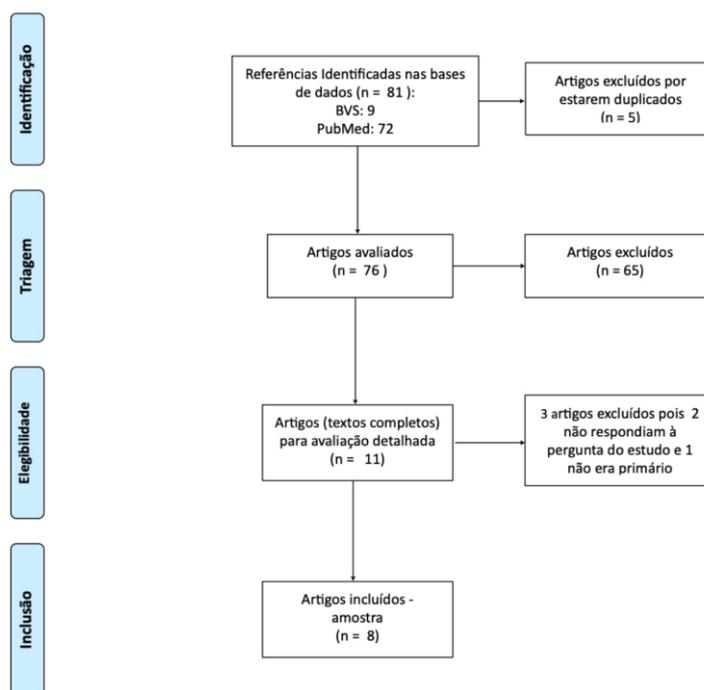
Após a busca dos artigos nas bases de dados, foi feita uma triagem dos 81 artigos encontrados. Nessa fase, os artigos foram colocados no aplicativo Rayyan, que identificou a repetição de textos, e após a realização cuidadosa da análise e da exclusão dessas cópias, resultaram em 76 artigos sem duplicatas. Na etapa seguinte, quatro revisores independentes fizeram a leitura individual do título e do resumo de cada artigo, a fim de analisar a pertinência desses artigos com o tema da revisão, identificando aqueles que divergiam completamente dos

pagina 5 de 17

DOI: <https://doi.org/10.56579/rei.v6i2.1193>

critérios de inclusão previamente estabelecidos. Na terceira etapa, após a seleção, no próprio aplicativo, dos 11 artigos que se encaixavam nos critérios, foi preciso ler a introdução, os resultados e a discussão de cada artigo para identificar quais, de fato, se adequam ao estudo. Como resultado, foram excluídos 3 artigos após a leitura, restando os 8 artigos que foram utilizados para o desenvolvimento do presente artigo de revisão.

Imagem 1 - Esquema evidenciando procedimentos metodológicos.



Elaboração: D os autores, 2024.

## PROCEDIMENTO PARA EXTRAÇÃO DOS DADOS

Na quarta fase, após a escolha dos artigos, quatro revisores independentes conduziram a extração de dados. Durante esse estágio, os revisores empregaram um documento no formato de arquivo, elaborado no aplicativo gratuito Google Docs, acessado por meio da conta institucional @upe.br. Neste documento, foram registrados o título, ano de publicação, objetivo, resultados, discussão e conclusões dos artigos selecionados, visando auxiliar os redatores e facilitar a organização dos dados.

## RESULTADOS

A amamentação mostra-se essencial para o bom desenvolvimento do sistema imunológico, e os bebês com esse tipo de alimentação apresentam taxas menores de morbidade e mortalidade por infecção, demonstrando uma ligação entre a microbiota e a defesa imune. A colonização intestinal dos recém-nascidos amamentados é inicialmente caracterizada pela rápida sucessão dos gêneros bacterianos *Bifidobacterium*, *Eubacterium* e *Clostridium*, a primeira podendo atingir até 90% da microbiota fecal, além de *Bacteroides* e *Lactobacillus*. É importante frisar que a amamentação não apenas expõe o bebê as bactérias do leite materno, como também as bactérias presentes na pele da lactante. O leite materno apresenta perfil de microbiota dependente da matriz proteica e lipídica, e essa interação é fundamental para os efeitos imunomodulatórios dos micro-organismos, como a adesão às mucosas mediada por ácidos graxos poliinsaturados. Os oligossacarídeos presentes no leite materno são uma classe intimamente ligada ao crescimento de certas colônias bacterianas intestinais, como *Staphylococcus* e *Bifidobacterium spp.*, através de interações específicas que atraem esses patógenos, selecionando-os positivamente, como demonstrado na relação entre a deficiência de 2'FL (2'-fucosilactose) no leite materno e consequente colonização retardada de *Bifidobacterium* (BIAGI, *et al.*, 2017) (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

O processo de desmame e abertura alimentar em direção a uma microbiota mais adulta favorece o desaparecimento das disparidades da colonização intestinal entre crianças que ingeriam leite materno e crianças que ingeriam fórmula. Essa comunidade mais diversificada é acentuada após 1 ano de idade, com *Bacteroides*, *Veillonella* e *Fusobacterium* crescentes (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

Na verdade, as diferenças nas microbiotas infantis foram em grande parte determinadas pela via de parto e não pela suplementação com fórmula, consistente com estudos anteriores. A suplementação causou alterações transitórias na microbiota, notadamente aumentos em *Campylobacter*, *Dermabacter*, *Peptoniphilus*, *Prevotella* e S24-7; e uma diminuição em *Eggerthella*. Todavia, foi notado que essas diferenças diminuiriam aos 6 meses de idade. Não foram detectadas diferenças no desenvolvimento imunológico de bebês suplementados versus não suplementados, seja nos imunofenótipos ou nas respostas à vacina contra o tétano (CHIN, *et al.*, 2021).

Actinobactérias foram significativamente super-representadas em bebês em amamentação exclusiva, enquanto *Bacteroidetes* foram super-representadas em bebês sem

amamentação exclusiva. Não foram notadas diferenças significativas entre os grupos do filo Firmicutes (THOMPSON, *et al.*, 2015).

A dinâmica alérgica não exime os lactentes por leite materno de desenvolverem alergias, já que antígenos da dieta da lactante estão presentes no leite materno, ou ele tem falta de certos constituintes necessários. A composição do leite materno depende de fatores externos, como o estado de saúde imunológico da mãe, ambiente, processos metabólicos e até mesmo o tipo de parto realizado. Foi constatado que bebês amamentados exclusivamente, e com mães alérgicas, possuíam menor colonização por bifidobactérias do que aqueles com mães não alérgicas. A microbiota do leite materno é também ligada ao sobrepeso durante a gravidez, com presença de Bacteroides e Staphylococcus maior, e Bifidobacterium menor. Dessa forma, sugere-se que crianças que ao longo dos anos tiveram manifestações alérgicas e/ou excesso de peso, em comparação com crianças saudáveis, tinham valores menores de colonização por bifidobactérias entre 6 meses e 1 ano de idade (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

A análise de certos componentes do sistema imune do recém-nascido traz dados como a expansão da resposta inata inicial através da expansão de monócitos e aumento passageiro do IFN $\gamma$  circulante, além do aumento da IL1RA, inibidor da IL-1b (pró-inflamatória), como forma de atenuar a resposta inata inicial ao contato com micro-organismos nas primeiras semanas de vida (HENRICK, *et al.*, 2021).

A falta de Bifidobacteriaceae foi associada a populações expandidas de neutrófilos, basófilos, plasmablastos e células T CD8+ de memória, indicando tanto inatos quanto ativação imune adaptativa. Mucosa associada às células T invariantes (MAIT) são células T importantes no intestino para resposta aos metabólitos bacterianos da vitamina B e estes também eram mais abundantes no sangue de crianças com baixa abundância de Bifidobacteriaceae. Em contrapartida, crianças com Bifidobacteriaceae intestinal abundante tiveram uma frequência maior de monócitos não clássicos, muitas vezes considerados como antiinflamatórios, bem como células T reguladoras experientes em antígeno que expressam o receptor CD39, um subconjunto Treg altamente supressivo. Além disso, as proteínas plasmáticas diferiram entre estes grupos e as crianças sem Bifidobacteriaceae apresentaram níveis elevados de fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) e IL-17A, mediadores críticos de doença intestinal/inflamação, e também as citocinas Th2 IL-13 e IL-1a, servindo como uma alarmina liberada pelas células necróticas e sinergizando com TNF $\alpha$  em uma variedade de respostas inflamatórias. Crianças com Bifidobacteriaceae abundantes apresentaram níveis elevados de citocinas IL-27 associadas

a Treg e IL-10, bem como o inibidor endógeno de IL-1 IL1RA, presumivelmente regulando respostas inatas mediadas por IL-1b. Mais surpreendente foi a elevação da IL-6 em crianças com abundante Bifidobacteriaceae. Foi concluído que em lactentes não colonizados por Bifidobacteriaceae ou nos casos em que estes micróbios não conseguem expandir-se durante os primeiros meses de vida, há evidência de inflamação sistêmica e intestinal, aumento da frequência de células imunitárias ativadas e níveis reduzidos de células reguladoras indicativas de desregulação imunológica sistêmica (HENRICK, *et al*, 2021).

Especificamente, foi demonstrado que os metabólitos derivados de Bifidobacterium modulam a inflamação induzida por patógenos através do receptor de aril-hidrocarboneto (AhR) e da via NRF-2. Observou-se correlações significativas (Spearman) entre uma série de proteínas plasmáticas, por exemplo, e níveis de IL-6, TNFa, IL-17A e IL-13, que foram todos associados negativamente à presença de genes de utilização de HMO, em particular genes dentro do cluster H5. Por outro lado, os bebês que metabolizam efetivamente os HMOs apresentaram níveis elevados de IL-27, uma citocina conhecida por limitar respostas do tipo Th2 e Th17 em favor de Th1 e regular a função das células T. Os dados acima indicam, portanto, que os genes de utilização de HMO expressados por bifidobactérias e outros micróbios benéficos em bebês amamentados correlacionam-se com a diminuição da inflamação sistêmica e uma redução nas respostas do tipo Th2 e Th17 (HENRICK, *et al.*, 2021).

Essas descobertas sugerem que metabólitos *B. infantis* EVC001 ou citocinas entéricas induzidas pela presença de *B. infantis* EVC001 exercem um efeito polarizador sobre células T CD4+ virgens que favorecem a polarização Th1, corroborando um mecanismo de efeito silenciador sobre IL-13 e IL-17 fecal in vivo (BIAGI, *et al.*, 2017).

Tomados em conjunto, os resultados encontrados indicam que durante as primeiras semanas da vida, existem respostas imunes transitórias aos micróbios colonizadores, centradas nas superfícies mucosas. A colonização do microbioma intestinal desempenha um papel fundamental nas respostas imunológicas, que provavelmente é influenciada por este processo, bem como por outros determinantes importantes da saúde, como o uso de antibióticos e a amamentação. Bactérias específicas, particularmente aquelas que expressam genes de utilização de HMO têm vantagens nutricionais na amamentação dos bebês, além de influenciar as interações imuno-micróbios, atenuando as respostas inflamatórias, em particular de Th2 e Th17, em favor de células Th1 e T reguladoras. Os principais metabólitos, como o ILA, exercem efeitos regulatórios diretos sobre Th2 e Th17, como a indução da galectina-1

reguladora, conhecida por limitar a ativação de células T. Dessa forma, esses efeitos de micróbios benéficos e seus metabólitos no sistema imunológico em desenvolvimento no início da vida têm consequências potenciais a longo prazo no que diz respeito ao risco de desenvolver doenças imunomediadas (HENRICK, *et al.*, 2021).

Foi observado também que a colonização inicial do intestino por Bifidobactérias consumidoras de leite materno está associada a um maior fenótipo imunoregulador, enquanto a colonização bifidobacteriana limitada está associada à ativação imunológica e inflamação intestinal (BIAGI, *et al.*, 2017).

No estudo que tinha por objetivo avaliar o efeito de uma fórmula teste contendo oligossacarídeo derivado do leite bovino (BMOS) e o probiótico *Bifidobacterium animalis ssp lactis* (*B. lactis*) no sistema imunológico, focando no efeito da modulação da microbiota na maturação imunológica de bebês de até 1 ano, foram feitas comparações entre os bebês que tomaram essa fórmula teste com um grupo de bebês que tomaram a fórmula de controle (a mesma fórmula, porém sem BMOS e *B. lactis*) e com um grupo de bebês amamentados com leite materno. A fórmula do teste foi bem tolerada, os parâmetros antropométricos não foram significativamente diferentes entre os grupos e alinhado com os padrões de crescimento da OMS até 12 meses. Já as concentrações de IgA nas fezes foram significativamente maiores no grupo de teste quando comparado com o grupo de controle em ambos 3 e 6 meses. Aos 3 meses, as concentrações de IgA nas fezes do grupo de teste, em comparação ao grupo de bebês amamentados, não foram significativamente diferentes aos 3 meses, mas aos 6 meses os níveis de IgA foram significativamente menores em comparação com o grupo amamentado com leite materno. As concentrações salivares de IgA, no entanto, não foram significativamente diferentes entre os grupos de fórmulas a qualquer momento. Dados também mostraram que o padrão da microbiota intestinal dos bebês do grupo de teste foram aproximados ao dos bebês amamentados (RADKE, *et al.*, 2016).

Por fim, foi demonstrado que os valores da maioria das aminas foram maiores no leite materno em comparação com as fórmulas infantis. Um grande efeito foi observado a partir do dia 5 para putrescina e a partir do dia 0 para espermidina e espermina em uma análise. Os valores foram mais baixos para isoamilamina no leite materno em comparação com a fórmula no dia 0 e dia 1 (SUÁREZ, *et al.*, 2019).

## DISCUSSÃO

A microbiota intestinal detém papel essencial no desenvolvimento saudável de um indivíduo, principalmente na saúde imunológica. Certas doenças crônicas, de perfil autoimune, alérgico e inflamatório, têm correlação direta com a falta de equilíbrio da biota intestinal, caracterizando um quadro de disbiose. Logo no início da vida, a cesárea e o uso de antibióticos são conhecidos por auxiliarem no processo de disbiose, conseqüentemente auxiliando também o desenvolvimento das doenças crônicas relacionadas à alimentação. É importante frisar que a disbiose traz conseqüências mais graves nos recém-nascidos e crianças pequenas por estimular alterações a longo prazo nos fenótipos imunológico e metabólico, mais sensíveis nessa fase da vida. Algumas dessas alterações são doenças respiratórias alérgicas, como asma, e doenças metabólicas como diabetes tipo 1 e obesidade (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

Até os 6 meses de idade, as diferenças na microbiota intestinal de bebês nascidos via parto normal ou cesariana são evidentes, se assemelhando durante o desenvolvimento infantil (ISOLAURI, *et al.*, 2019) (CHIN, *et al.*, 2021). Considerando a vacina contra o tétano, não foram encontradas diferenças nas respostas imunológicas entre bebês nascidos via normal ou cesariana, sustentando a ideia de que as alterações nos imunofenótipos não são gerais, mas sim específicas (CHIN, *et al.*, 2021).

A composição da microbiota do próprio leite materno é também influenciada pelo método de parto, com características diferentes observadas entre mães que tiveram parto normal e aquelas que fizeram cesariana. Além disso, diferenças também foram identificadas entre tipos específicos de cesariana, como a cesariana eletiva versus a não eletiva, o que demonstra a contribuição dos processos fisiológicos do parto, como estresse e os sinais hormonais, na constituição da microbiota do leite materno que será passado para o lactente (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

Considerando o tipo de parto e o contato com algumas espécies, crianças nascidas por via vaginal carregam micróbios da vagina, como *Prevotella* e *Lactobacillus*, bem como os gêneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Parabacteroides* e *Escherichia*. O intestino materno emerge como uma fonte crucial de bactérias colonizadoras precoces, sendo que 72% das bactérias intestinais em recém-nascidos de parto vaginal têm origem no intestino materno, em comparação com 41% em bebês nascidos por cesariana, demonstrando o caráter dependente de diversos sistemas para uma boa colonização intestinal. É observado também que recém-nascidos por cesariana frequentemente são colonizados por bactérias associadas à pele e boca

da mãe, ou do meio externo, e o gênero *Bifidobacterium* é menos abundante em comparação com bebês nascidos por parto normal (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

O aleitamento materno promove a colonização por bifidobactérias no intestino do bebê. Sabe-se que o processo de colonização envolve uma rápida sucessão de gêneros anaeróbios, como *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, e o aumento de espécies de bacteroides. Nos lactentes, diferentes espécies de *Bifidobacterium* podem representar até 90% da microbiota fecal total, sendo as espécies *B. breve*, *B. infantis* e *B. longum* muito presentes. As espécies *Bifidobacterium breve*, *B. bifidum* e *B. longum* foram identificadas em 46%, 51% e 74% das amostras de leite e fezes coletadas de pares mãe-bebê, o que sustenta a ideia do leite materno fornecer as bactérias probióticas precursoras para o microbioma intestinal do lactente. Quanto ao *Lactobacillus*, o tipo mais prevalente no leite materno e fórmulas, as fezes costumam conter principalmente o grupo *Lactobacillus acidophilus*. Além disso, a amamentação expõe o bebê às colônias presentes na pele da mãe (BIAGI, *et al.*, 2017) (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

O crescimento infantil e o processo de desmame, com consequente abertura alimentar, e consumo de alimentos sólidos, faz as disparidades na microbiota de bebês alimentados com leite materno ou fórmula acabarem. Há um aumento na quantidade de *Bacteroides* e *Clostridium* nos bebês alimentados por leite materno, além de um aumento de *E. coli* a partir da abertura alimentar. A comunidade mais heterogênea é acentuada após 1 ano de idade, com *Bacteroides*, *Veillonella* e *Fusobacterium* crescentes (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

Como dito anteriormente, as diferenças nas microbiotas infantis foram em grande parte determinadas pela via de parto e não pela suplementação com fórmula. A suplementação causou alterações de curto prazo na microbiota, com aumentos em *Campylobacter*, *Dermabacter*, *Peptoniphilus*, *Prevotella* e *S24-7*; e uma diminuição em *Eggerthella*. Porém, foi notado que essas diferenças diminuiriam aos 6 meses de idade. Não foram detectadas diferenças no desenvolvimento imunológico de bebês suplementados versus não suplementados. Mais estudos ainda são necessários para certificar as disparidades, ou não, entre bebês com amamentação exclusiva, fórmula exclusiva ou suplementados (CHIN, *et al.*, 2021). Considerando o fator exclusividade, Actinobactérias foram significativamente super-representadas em bebês com amamentação exclusiva, enquanto Bacteroidetes foram super-representadas em bebês sem amamentação exclusiva, mas não foram notadas diferenças significativas entre os grupos do filo Firmicutes, e não há certezas em relação ao prazo dessas diferenças (THOMPSON, *et al.*, 2015).

No quesito imunológico, a amamentação exclusiva não exime os lactentes de posteriormente desenvolverem distúrbios alérgicos ou outras doenças não transmissíveis. Uma das causas pode ser a presença de antígenos no leite materno, ou falta de alguns componentes essenciais. É importante frisar que o leite materno não é uma substância igual em todas as mulheres, visto que depende da alimentação, saúde, metabolismo e contato com o meio externo da mãe (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

Ainda sobre o leite materno, ele apresenta perfil de microbiota dependente da matriz proteica e lipídica, e essa interação é essencial para os efeitos imunomodulatórios dos micro-organismos, como a adesão às mucosas mediada por ácidos graxos poliinsaturados. O leite materno fornece oligossacarídeos (>200 isômeros prebióticos) que são o componente alimentar que mantém as colônias microbianas vivas. Os diferentes tipos de oligossacarídeos influenciam na seleção de microrganismos, promovendo a seleção de certas bactérias e atuando como “moléculas chamariz” para patógenos. Um exemplo dessa seleção pode ser a menor quantidade de *Bifidobacterium* no intestino infantil de crianças que se alimentam com leite materno com baixa concentração de 2’FL (2’-fucosilactose), em contraste com bebês que ingerem leite materno com altas concentrações de 2’FL e, portanto, não têm colonização precária por bactérias do gênero *Bifidobacterium* (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

Outros fatores, como ganho de peso durante os meses de gestação, em conjunto com o panorama geral de saúde da mãe, influenciam nos micro-organismos presentes no leite. Lactentes de mães alérgicas apresentam menor concentração de *Bifidobacterium* que lactentes de mães não alérgicas. Já no quesito "ganho considerável de peso durante a gestação ou sobrepeso", bacteroides e *Staphylococcus* estavam aumentados e *Bifidobacterium* diminuído na composição biótica do leite materno, se comparados com o leite materno de uma gestação com ganho de peso normal (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

Há também uma correlação entre crianças que desenvolveram alergias ou ganho excessivo de peso ao longo da vida com uma menor concentração de bactérias do gênero *Bifidobacterium* (em especial *B. longum* e *B. breve*) entre 6 meses e 1 ano de idade, se comparadas com crianças que mantiveram-se dentro da faixa de peso ideal e não desenvolveram alergias (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

Dessa forma, muitos estudos apontam que as interações imuno-microbianas no início da vida influenciam o risco de doenças imunomediadas mais tardiamente. Em dois estudos incluídos nesta revisão, foram mostrados resultados que ampliam a compreensão de uma

sequência imunológica de eventos, desencadeados pela colonização microbiana, que resultam em uma relação imuno-micróbio equilibrada que pode se relacionar com inflamação intestinal.

Mais notavelmente, foi mostrado que dentro do compartimento de células T, baixa abundância de espécies de bifidobactérias e/ou falta de capacidade de utilização de oligossacarídeo do leite está associada à tal inflamação, podendo estar relacionada a aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL13 e IL-17A em amostras de plasma (HENRICK, *et al*, 2021) (BIAGI, *et al.*, 2017). Em contraste, uma elevada abundância de Bifidobacteriaceae foi associada a um fenótipo anti-inflamatório e imunoregulador caracterizado por, entre outros fatores, células T reguladoras e elevadas concentrações plasmáticas das citocinas imunorreguladoras IL-10 e IL-27. Em outras palavras, foi descoberto que nas crianças com bifidobactérias abundantes, a frequência das células Treg da memória foi inversamente correlacionada com a grande quantidade de monócitos pró-inflamatórios e com a abundância da população de células T ativadas. Pontua-se, também, que tal relação regulatória é ausente em crianças sem esses micróbios benéficos. Foi mostrado, ainda, que a capacidade das bactérias intestinais de metabolizar HMOs foi correlacionado com concentrações plasmáticas de proteínas relacionadas à imunidade, que nesse caso se traduz em níveis mais baixos de citocinas pró-inflamatórias e níveis mais elevados da citocina mais imunorreguladora IL-27. (HENRICK, *et al*, 2021) (BIAGI, *et al.*, 2017).

Dados encontrados pelos pesquisadores mostraram uma ligação entre a capacidade geral do microbioma de acessar e metabolizar HMOs a níveis diminuídos de inflamação da mucosa e inflamação sistêmica (HENRICK, *et al*, 2021). Um metabólito produzido em bebês amamentados colonizados com *B. infantis*, o ILA, demonstrou diminuir a inflamação entérica através da ativação de AhR e Nrf-2, embora no sistema imunológico as mudanças não foram resolvidas. Na verdade, a correlação dos genes de utilização de HMO, especificamente a abundância do gene H5 e a diminuição de genes relacionados com Th2 citocinas com aumento de IL-27, é importante dadas as descobertas de que H5 é um determinante ecológico chave da aptidão para Espécies de *Bifidobacterium* no intestino infantil e esta vantagem de aptidão é provavelmente metabólica e dependente de indução de tolerância imunológica. Coletivamente, esses dados fornecem detalhes adicionais sobre o papel dos micróbios benéficos durante o amadurecimento do sistema imunológico no início da vida e propõem possíveis explicações para dados correlatos relatados anteriormente, ao mostrar que bebês colonizados no início da vida com espécies de *Bifidobacterium* apresentam chances menores de desenvolver doenças

imunomediadas. Ademais, os resultados encontrados destacam a grande relevância da colonização precoce do microbioma durante uma janela chave de evolução imunológica, desenvolvimento em que há oportunidades para complementar o microbioma intestinal infantil com benefícios potenciais para a criança pequena não só no início da vida, mas, sobretudo, a longo prazo. (HENRICK, *et al.*, 2021).

Na análise combinada, os autores observaram que as abundâncias fecais infantis dos colonizadores intestinais potencialmente patogênicos Clostridiaceae, Enterobacteriaceae e Staphylococcaceae correlacionaram-se positivamente com as concentrações fecais de pró-inflamatórias citocinas que impulsionam T helper 2 (Th2) e respostas imunes Th17, enquanto uma maior abundância fecal de Bifidobacteriaceae foi negativamente correlacionada com as concentrações dessas citocinas. Conseqüentemente, Th2 pró-inflamatório e as respostas Th17 foram reduzidas no B. grupo infantil EVC001 infantil após suplementação em comparação com o grupo controle sem intervenção. (BIAGI, *et al.*, 2017).

É fato que o leite materno fornece uma fonte contínua de bactérias durante a lactação e há consenso de que esta disposição inocula o trato gastrointestinal com bactérias comensais ou benéficas. No entanto, acredita-se que esta comunidade bacteriana do leite seja influenciada pelas comunidades presentes em outros tecidos maternos, a exemplo da pele e trato gastrointestinal, bem como pela cavidade oral do bebê e pelo ambiente. (ISOLAURI, *et al.*, 2019) Nesse contexto, foi incluído, nesta revisão, um estudo transversal realizado com uma população de mulheres da Guatemala, que teve como objetivo realizar uma análise das mudanças temporais no microbioma do leite materno que ocorrem durante os estágios posteriores da lactação. (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

Muitas espécies caracterizadas como potencialmente benéficas para a saúde infantil também foram identificadas como significativamente enriquecidas no leite materno precoce. *Lactobacillus gasseri* é bem caracterizado como uma espécie com algumas cepas que produzem bacteriocinas e é amplamente considerado um suposto colonizador precoce de crianças estômago. Posteriormente, é fortemente comercializado como um probiótico devido ao potencial de fornecer resistência do hospedeiro a infecções de patógenos. Outra espécie com potenciais propriedades antimicrobianas com níveis de abundância relativa mais elevados no leite materno no estágio inicial da lactação foi *Janthinobacterium agaricidamnosum*, que produz um composto antifúngico com forte atividade contra os principais patógenos fúngicos humanos. (ISOLAURI, *et al.*, 2019).

Com efeito, tanto a amamentação quanto a fórmula fornecem vários componentes, como as poliaminas, que são fundamentais para o desenvolvimento do trato gastrointestinal e o estabelecimento da microbiota e do sistema imunológico dos recém-nascidos. (SUÁREZ, *et al.*, 2019). Nesse sentido, os pesquisadores de um estudo incluído nesta revisão apontaram que o conteúdo de poliaminas e aminas primárias nas fezes de uma população de recém-nascidos, durante os primeiros 30 dias após o nascimento, são determinados pelo tipo de alimentação, ou seja, leite materno ou fórmula infantil, mas não tem relação com a quantidade ingerida. As diferenças no conteúdo podem estar relacionadas à presença distinta de bactérias produtoras de aminas, cujas poliaminas podem ajudar a estabelecer. Portanto, ambos os tipos de alimentação (leite materno e fórmula) fornecem vários componentes fundamentais para o desenvolvimento do trato gastrointestinal e o estabelecimento da microbiota e do sistema imunológico, a exemplo das poliaminas, que foram analisadas neste estudo (SUÁREZ, *et al.*, 2019). Os resultados encontrados mostraram que, no leite materno humano, ao nascer e nos primeiros 3 dias, houve maiores concentrações de espermidina e espermina, que aumentaram até a 2ª semana pós-parto, tendendo a diminuir posteriormente. A espermidina foi a poliamina mais concentrada, atingindo cerca de quatro a cinco vezes a concentração inicial. Quando se refere às fases do leite materno, as concentrações de poliaminas foram menores na fase do colostro, sendo a putrescina a menor concentração, e depois aumentou no período de transição e estágios maduros. (SUÁREZ, *et al.*, 2019).

Foi constatado que a isoamilamina no leite materno também varia com o tempo, aumentando até a 1ª semana após o parto. Os primeiros dias foram menos concentrados que nas fórmulas infantis e, posteriormente, foram semelhantes. No leite materno, mas não nas fórmulas infantis, isoamilamina correlacionou-se positivamente com as concentrações de espermidina e espermina, o que sugere a existência de produtores ou fatores degradantes em comum com as poliaminas, afetando ou sendo afetado por eles. (SUÁREZ, *et al.*, 2019).

Em síntese, através do leite materno, a microbiota da mãe é transferida e ajuda no estabelecimento da microbiota do recém-nascido. As bactérias comensais e os antimicrobianos fatores produzidos pela microbiota ou por compostos presentes em leite humano (bioativo ou agindo como probiótico) são importantes. Além disso, a absorção intestinal das poliaminas determina o seu conteúdo intraluminal. (SUÁREZ, *et al.*, 2019).

Além disso, um outro estudo incluído nesta revisão avaliou o efeito de uma fórmula teste contendo oligossacarídeo derivado do leite bovino (BMOS) e o probiótico

*Bifidobacterium animalis ssp lactis* (*B. lactis*) em bebês de até 1 ano, encontrando resultados que sugeriram que *BMOS* e *B. lactis* podem ajudar na absorção e utilização eficiente de nutrientes, focando no efeito da modulação da microbiota na maturação imunológica deles, além de promover o desenvolvimento de bactérias benéficas, assemelhando ao ecossistema intestinal de bebês que se são nutridos com o leite materno.

De início, destacam-se os achados desse estudo de que a suplementação com *BOMS* e *B. Latis* promove o desenvolvimento de bactérias benéficas, o que conduz o ecossistema intestinal em direção ao observado em bebês amamentados exclusivamente. Isso foi observado a partir da população de bifidobactérias e lactobacilos, a qual foi maior no Grupo de teste quando comparado ao Grupo controle. Além disso, os produtos de fermentação dos oligossacarídeos não digeríveis, ácidos graxos de cadeia curta, também podem ser usados pelo hospedeiro como fonte de energia, o que pode ter contribuído para o crescimento dos bebês do grupo Teste. Além da contagem de bifidobactérias e lactobacilos ter sido superior no grupo de teste, as contagens de clostrídios/eubactérias e pH fecal foram menores neste grupo em comparação com o grupo Controle (RADKE, *et al.*, 2016)<sup>19</sup>. Logo, é sugerido que a suplementação com *BMOS* e *B. lactis* promove a colonização de bactérias potencialmente benéficas, o que promove o desenvolvimento de um ecossistema intestinal bastante semelhante ao de bebês amamentados.

Faz-se necessário pontuar, também, que durante os primeiros meses de vida, independente do modo de alimentação, o sistema imunológico amadurece e a sIgA é produzida. Devido à contribuição adicional de sIgA do leite materno, o nível de sIgA nas fezes é naturalmente maior em bebês amamentados em comparação com bebês alimentados com fórmula (RADKE, *et al.*, 2016). Neste estudo, a ingestão da fórmula de teste aumentou significativamente a sIgA fecal aos 3 e 6 meses em comparação com a fórmula Controle, atingindo até mesmo os níveis observado em bebês amamentados aos 3 meses, e descobertas semelhantes foram feitas para  $\alpha$ -1 antitripsina. Essas descobertas foram muito importantes, já que estudos anteriores mostraram que o aumento de sIgA fecal e  $\alpha$ -1 antitripsina podem contribuir para aumentar a resistência da mucosa contra infecções gastrointestinais. (RADKE, *et al.*, 2016).

Em síntese, é sugerido que o *BMOS* desempenha um papel na contribuição para o aumento da sIgA nas fezes e da modulação do sistema imunológico no intestino, muito provavelmente através da modulação da microbiota no início da vida. Por fim, foi mostrada a

promoção de uma composição benéfica da microbiota, aumento de bifidobactérias e lactobacilos e diminuições na contagem de clostrídios/eubactérias, como se observa em bebês amamentados de forma exclusiva, além do aumento nas concentrações fecais de sIgA e  $\alpha$ -1 antitripsina, sugerindo efeito favorável nos marcadores imunológicos e no meio intestinal. (RADKE, *et al.*, 2016).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A amamentação desempenha um papel vital no fortalecimento do sistema imunológico, resultando em menores taxas de morbidade e mortalidade por infecção, evidenciando uma relação íntima entre a composição da microbiota e a imunidade. A disbiose, resultante de fatores como cesariana e uso de antibióticos, foi associada a diversas doenças crônicas, destacando-se alergias, doenças respiratórias e metabólicas. O método de parto, a amamentação, a saúde materna e o uso de fórmulas foram identificados como determinantes na composição da microbiota intestinal, impactando o desenvolvimento imunológico e metabólico nos primeiros anos de vida. Ademais, as diferenças observadas na microbiota de crianças alimentadas com leite materno versus fórmula destacam a importância da amamentação na colonização intestinal, promovendo o crescimento de bifidobactérias e influenciando positivamente o sistema imunológico, visto que sua presença no início da vida foi associada a um perfil anti-inflamatório e imunoregulador, mesmo a suplementação com fórmula tendo efeitos a curto prazo.

Os resultados também abordaram intervenções, como o uso de oligossacarídeos derivados do leite bovino (BMOS) e probióticos, mostrando potenciais benefícios na promoção de uma microbiota semelhante à de bebês amamentados exclusivamente. Além disso, a influência desses componentes na produção de sIgA fecal e  $\alpha$ -1 antitripsina destaca o impacto positivo na resistência mucosa contra infecções gastrointestinais. Ainda assim, a ingerência de leite materno se apresentou como mais vantajosa que a ingerência de fórmula principalmente no início da vida, e a compreensão desses fatores contribui não apenas para a saúde imediata do lactente, mas também para o estabelecimento de padrões duradouros com repercussões significativas na saúde a longo prazo.

## REFERÊNCIAS

HENRICK, B. M. et al. Bifidobacteria-mediated immune system imprinting early in life. **Cell**, v. 184, n. 15, p. 3884-3898.e11, jul. 2021.

BIAGI, E. et al. The Bacterial Ecosystem of Mother's Milk and Infant's Mouth and Gut. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, 30 jun. 2017.

GONZALEZ, E. et al. Distinct Changes Occur in the Human Breast Milk Microbiome Between Early and Established Lactation in Breastfeeding Guatemalan Mothers. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 557180, 2021.

SOLAURI, E. et al. Early-Life Nutrition and Microbiome Development. **Nestlé Nutrition Institute Workshop Series**, p. 151–162, 2019.

CHIN, N. et al. Transient Effect of Infant Formula Supplementation on the Intestinal Microbiota. **Nutrients**, v. 13, n. 3, p. 807, 1 mar. 2021.

THOMPSON, A. L. et al. Milk- and solid-feeding practices and daycare attendance are associated with differences in bacterial diversity, predominant communities, and metabolic and immune function of the infant gut microbiome. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 5, 5 fev. 2015.

SUÁREZ, L. et al. Amine variations in faecal content in the first weeks of life of newborns in relation to breast-feeding or infant formulas. **The British Journal of Nutrition**, v. 122, n. 10, p. 1130–1141, 28 nov. 2019.

RADKE, M. et al. Starter formula enriched in prebiotics and probiotics ensures normal growth of infants and promotes gut health: a randomized clinical trial. **Pediatric Research**, v. 81, n. 4, p. 622–631, 21 dez. 2016.