

Taller de Expertos en Probióticos: Revisión de la evidencia y aplicaciones clínicas.

Asociación Argentina de Alergia e Inmunología Clínica (AAAeIC)

Task Force in Probiotics:
Evidence review and clinical applications

Participantes:

Ledit Arduso¹, Mónica De Gennaro², Kumiko Eiguchi³, Etelvina Rubeglio⁴, Juan A. de Paula⁵, Gabriela Perdigón⁶

1. Presidente de AAAeIC. 2. Directora Científica AAAeIC (Coordinadora). 3. Directora del Comité de Inmunología Clínica AAAeIC. 4. Pediatra y Microbióloga. 5. Jefe de Gastroenterología del Hospital Italiano. 6. Dra. en Bioquímica CERELA-CONICET (Centro de Referencia para Lactobacilos). Profesora titular en la Universidad Nacional de Tucumán.

Correspondencia: Dra. Kumiko Eiguchi. AAAeIC, Moreno 909, CABA, Rep. Argentina.

ARCHIVOS DE ALERGI A E INMUNOLOGÍA CLÍNICA 2010;41(2):45-53

Contenido

- **Introducción.**
Dr. Ledit Arduso
- **Probióticos: conceptos generales.**
Dra. Mónica De Gennaro.
- **Sistema inmune: marco conceptual para la acción de probióticos.**
Dra. Kumiko Eiguchi.
- **Modulación de la respuesta inmune por probióticos.**
Dr. Tomás Herrero.
- **Consideraciones sobre probióticos, prebióticos y leche materna.**
Dra. Etelvina Rubeglio.
- **Sobrecrecimiento bacteriano y probióticos.**
Dr. Juan A. De Paula.
- **Probióticos: ¿qué tenemos al presente?**
Dra. Gabriela Perdigón.

alimentos hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles”.

Los microorganismos probióticos más estudiados y ampliamente utilizados en el desarrollo de alimentos pertenecen al género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (aunque no exclusivamente), y son componentes normales de la microbiota intestinal.

Los beneficios propuestos para los probióticos han sido objeto de una evaluación científica rigurosa creciente durante las últimas décadas, y, actualmente, existe fuerte evidencia para su utilización en el tratamiento y la prevención de algunos desórdenes y patologías.

El objetivo de este taller fue revisar los aspectos generales de los probióticos, los mecanismos por los cuales ejercen su efecto benéfico y la evidencia científica disponible para que, tanto el médico especialista como el no especialista, puedan disponer de información para la adecuada recomendación en su práctica diaria.

Introducción

Dr. Ledit Arduso

Probiótico, un término que significa **a favor de la vida**, se utiliza actualmente para designar aquellos microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios a la salud del huésped. Se atribuye a Eli Metchnikoff, premio Nobel de comienzos del siglo pasado, la observación original sobre la función positiva desempeñada por algunas bacterias. En 1907, Metchnikoff afirmó que “la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los

Probióticos: conceptos generales

Dra. Mónica De Gennaro

Definiciones

Probióticos: son microorganismos vivos que, al administrarse en cantidades adecuadas, confieren beneficios para la salud del huésped.

Prebióticos: son sustancias no digeribles que ejercen un efecto fisiológico en el huésped estimulando selectivamente el crecimiento favorable o la actividad de un número limitado de bacterias autóctonas.

Simbióticos: son productos que contienen tanto probióticos como prebióticos.

Alimentos funcionales

Un alimento puede ser considerado funcional si logra demostrar científicamente que posee efectos beneficiosos para la salud sobre una o más funciones en el organismo, más allá de sus propiedades nutricionales habituales.

Los alimentos funcionales probióticos tienen capacidad de intervenir en la regulación del crecimiento celular, en la ecología intestinal y en la inmunomodulación.

Criterios mínimos exigidos para los productos probióticos

- Estar especificado por género y cepa. Los géneros que más comúnmente se utilizan son del tipo *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y cepas específicas de *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 1).
- Contener bacterias vivas.
- Ser administrado en dosis adecuada hasta el final de su vida útil con variabilidad mínima entre un lote y otro.
- Haber demostrado ser eficaz en estudios controlados en humanos.

Características de los probióticos

- No deben ser patógenos. Son residentes normales y que frecuentemente transitan por el aparato digestivo.
- No deben presentar infectividad ni toxicidad.
- Deben estar vivos durante su tránsito por el intestino delgado y el colon.
- Deben tener buena capacidad de adherencia al epitelio intestinal.
- Deben pertenecer a género o especies bacterianos que existen naturalmente en la biota intestinal humana.
- Deben mantener su actividad y viabilidad a lo largo del proceso de fabricación y almacenamiento.
- Estar presentes como microorganismos vivos y en alto número (10^7 a 10^{10} UFC) antes de ser ingeridos.
- Sobrevivir su paso a través del tracto gastrointestinal para producir su efecto.
- Alcanzar el sitio de acción en alto número (10^8 UFC/g de fluido intestinal).

Especies y cepas

- Los efectos son específicos para cada cepa.
- Deben documentarse los efectos sanitarios de cada cepa específica presente en el producto en venta.
- Los resultados y los artículos de revisión provenientes de estudio con cepas específicas no pueden ser utilizados como prueba para avalar los efectos sobre la salud de cepas diferentes a las incluidas en el estudio.
- Los estudios que documentan eficacia de cepas específicas a determinada dosis no constituyen evidencia suficiente como para respaldar los efectos sobre la salud a una dosis más baja.
- Algunos efectos pueden no reproducirse cuando se cambia el vehículo o alimento portador.

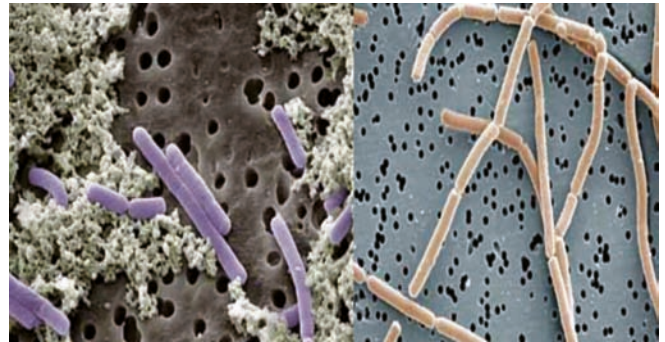


Figura 1. Izquierda: *Lactobacillus casei* DN-114 001. Derecha: *Lactobacillus bulgaricus*.

Efectos sobre el sistema inmune

- Aumento de la proliferación en órganos del sistema inmune (placas de Peyer, bazo).
- Estimulación de los fagocitos/macrófagos, células NK, linfocitos T colaboradores.
- Aumento de liberación de citocinas (IFN- γ , IL-12, IL-10, IL-1 α).
- Desplazamiento en el equilibrio Th1/Th2.
- Aumento de la producción de anticuerpos específicos, IgA, niveles de IgG.
- Aumento de la resistencia y supervivencia durante la coadministración de virus, toxinas y bacterias.
- Efectos sobre enterocitos, células presentadoras de antígenos, células reguladoras, linfocitos T y B.
- Efectos antiinflamatorios mediados por receptores Toll (TLR) expresados en enterocitos.
- Promueven actividad inmunorregulatoria en el intestino.
- Promueven el desarrollo de células reguladoras, incrementando los niveles de IL-10.
- Los probióticos también estimulan la producción de IgA en sitios distales como el tracto respiratorio.

Beneficios no inmunológicos

- Colaboran con la digestión de los alimentos y compiten con los patógenos por los nutrientes.
- Alteran el pH local para crear un ambiente desfavorable para los patógenos.
- Fagocitan radicales superóxidos.
- Estimulan la producción epitelial de mucina.
- Aumentan la función de barrera intestinal.
- Compiten por adherencia con los patógenos.
- Modifican las toxinas de origen patógeno.

Algunas aplicaciones clínicas

- **Cáncer de colon:** el estudio SYNCAN evaluó el efecto de oligofruktosa más 2 cepas de probióticos en personas de riesgo. Se sugiere que una preparación simbiótica podría disminuir la expresión de marcadores para cáncer colorrectal.

- **Tratamiento de la diarrea aguda:** *L. reuteri*, *L. rhamnosus* GG, *L. casei* DN-114 001 y *S. cerevisiae* (boulardii) sirven para reducir la severidad y la duración. De los estudios surge la evidencia de que son más seguros y eficaces en cuadros virales.
- **Prevención de la diarrea aguda:** hay evidencia sugestiva de que *L. GG*, *L. casei* DN-114 001 y *S. boulardii* son eficaces.
- **Diarrea asociada a antibióticos:** evidencias de eficacia de *S. boulardii* o *L. rhamnosus* GG en niños y adultos, y *L. casei* DN-114 001 en adultos hospitalizados.
- **Diarrea asociada a radiación.**
- **Erradicación de *Helicobacter pylori*:** como terapia adyuvante con antibióticos.
- **Alergia:** prevención de dermatitis atópica en madres embarazadas y recién nacidos hasta 6 meses de edad.
- **Hepatoencefalopatía.**
- **Enfermedad intestinal inflamatoria:** *E. coli* resultó efectiva en remisión de CU (*colitis ulcerosa*), no se han logrado resultados clínicos en la enfermedad de Crohn.
- **Síndrome del intestino irritable.**
- **Malabsorción de lactosa.**
- **Enfermedad cardiovascular:** aún no se ha logrado probar utilidad para reducir el riesgo.
- **Enterocolitis necrosante.**
- **Enfermedad hepática grasa no alcohólica.**
- **Prevención de infecciones sistémicas.**

Sistema inmune: marco conceptual para la acción de probióticos

Dra. Kumiko Eiguchi

Inmunidad

El sistema inmune tiene como función esencial combatir a diferentes microorganismos que pueden provocar infecciones extracelulares o intracelulares, para lo cual se activan mecanismos humorales o celulares en los que participan distintas células (linfocitos, fagocitos, inflamocitos) y moléculas (complemento, anticuerpos, citocinas, mediadores de la inflamación, etc.) según el caso.

La inmunidad es considerada como el estado de protección o resistencia contra distintas enfermedades infecciosas. Desde este concepto podemos hablar de **inmunidad innata o inespecífica**, que comprende los mecanismos básicos de resistencia que cada uno posee al nacer, e **inmunidad específica o adaptativa**, que involucra los mecanismos de reconocimiento, activación y respuesta del sistema inmune con células (linfocitos T) y proteínas (anticuerpos [Ac]) específicas frente a una sustancia extraña denominada antígeno (Ag). Se basa en la selección clonal de linfocitos B y T. Ambos tipos de respuestas se encuentran interrelacionadas a través de moléculas como las citocinas y las moléculas de adhesión.

Inmunidad innata o inespecífica

La inmunidad innata es el estado de protección o resistencia que cada individuo tiene al nacer por su capacidad de reconocer patrones moleculares conservados comunes a distintos grupos o familias de microorganismos patógenos y destruirlos, sin que haya existido un contacto previo con ellos. Estos patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) son reconocidos por receptores (receptores de reconocimiento de patrones [RRP]) que se encuentran ampliamente distribuidos en las células fagocíticas. A diferencia de la inmunidad adaptativa o específica, no reconoce a un patógeno en particular, ni tiene la especificidad característica de ésta; por ello es que también se la conoce como inespecífica. Se consideran en este tipo de inmunidad diferentes mecanismos celulares y humorales que responden de forma inmediata mientras generan señales para la producción de respuestas tardías hasta que responda la inmunidad específica.

Entre los elementos y mecanismos innatos de protección o resistencia podemos considerar los siguientes:

Barreras naturales

Piel. La piel con su capa de queratina es una barrera física. Posee glándulas sudoríparas, que secretan el sudor cuyo pH impide la supervivencia de muchas especies microbianas, y glándulas sebáceas que producen ácidos grasos de cadena corta (pH de 3 a 5) que impiden el desarrollo bacteriano. Por otra parte, se encuentra en equilibrio la microbiota habitual.

Membranas mucosas. La microbiota (antes conocida como flora) normal de las mucosas compite con los gérmenes patógenos por el sitio y los nutrientes. El mucus es capaz de atrapar microorganismos y las cilias propulsan la eliminación de gérmenes hacia el exterior (movimiento ciliar), y posee en su composición mucinas secretadas por células epiteliales (MUC1 a MUC8) y oligosacáridos. Tiene una permeabilidad selectiva que permite excluir toxinas y patógenos. Pueden encontrarse productos de secreción como enzimas proteolíticas, p. ej., la α -antitripsina, lactoferrina; lisozima, sistema de quininas y otras. En el pulmón se encuentra la proteína surfactante pulmonar A (SFTPA), que actúa como ligando de moléculas de la pared de diferentes bacterias. SFTPA es crítica para la protección de agentes infecciosos y la respuesta temprana ante la exposición de agentes medioambientales. Neutraliza al virus sincitial respiratorio, aumenta la fagocitosis y sería importante su acción inmunomoduladora al unir aeroalergenos, incluyendo extractos inhalatorios de ácaros.

Nariz, nasofárinx y bronquios. Células vibrátiles, estornudo, escalada mucociliar (eliminación de partículas según tamaño), tos, secreciones bronquiales.

Ojos. Parpadeo, lágrimas, lisozima.

Boca. Saliva, lisozima, enzimas.

Estómago. pH ácido, enzimas digestivas.

Intestino delgado. Presenta la microbiota que puede encontrarse por gramo de contenido luminal en el yeyuno en el orden de 10^4 y en el íleon de 10^7 y que junto a los Ag alimentarios participan en el desarrollo del sistema inmune de la mucosa intestinal. Dicho

sistema inmune posee una fina modulación que permite la generación de tolerancia contra Ag inocuos y la vigilancia frente a microorganismos patógenos. La disbacteriosis producida por ejemplo por antibióticos trae alteraciones de la respuesta inmune que puede ser corregida con la presencia de los probióticos.

La superficie apical del enterocito posee microvellosidades, conocidas como ribete en cepillo, cubiertas por una gruesa capa llamada glucocáliz que actúa como barrera física y biológica, que posee enzimas como peptidasas, disacaridasas y fosfatasas. Como barrera física impide el ingreso de Ag desde la luz, las uniones estrechas mantienen selladas las células vecinas impidiendo el pasaje de moléculas mayores de 6 a 12 Å y son reguladas por citocinas, toxinas bacterianas y agentes farmacológicos. Las citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IFN- γ , TNF- α) aumentan la permeabilidad, mientras que TGF- β e IL-10 inhiben el pasaje de macromoléculas. Por otra parte, el epitelio es activo contra la invasión de patógenos y capaz de producir tanto citocinas proinflamatorias como antiinflamatorias (IL-10, TGF- β), quimiocinas, componentes del sistema de complemento como C3, C4 y factor B, defensinas α y β , lisozima, lactoferrina y lactoperoxidasa, además de las glucoproteínas que forman el moco. El epitelio expresa receptores para citocinas y receptores tipo Toll (TLR).

Existe una estrecha colaboración entre el epitelio intestinal y el sistema inmune, que reconoce las moléculas y macromoléculas que le llegan desde el epitelio. Las placas de Peyer y los ganglios linfáticos mesentéricos son las estructuras inmunológicas que funcionan como sitios inductivos. Son los principales elementos defensivos contra los microorganismos y generan células efectoras que migrarán y participarán en la respuesta inmune en sitios distantes del sistema de mucosas (vías respiratorias, lágrimas, salivas, glándula mamaria, mucosa genitourinaria), especialmente linfocitos B productores de IgA que al atravesar las células epiteliales generarán IgA secretoria. El 90% de la IgA en las mucosas es dimerica y con la pieza secretoria. Existe una prevalencia local de señales co-estimuladoras y citocinas (TGF- β , IL-5, IL-6 e IL-10) que favorecen el cambio de isotipo a IgA, por lo que predomina una expansión de linfocitos B IgA⁺ que expresan los receptores CCR9 y CCR10 cuyos ligandos son respectivamente las quimiocinas CCL25 y CCL28 presentes en el epitelio de las mucosas, lo que asegura el homing de esos linfocitos en las mucosas y el predominio de IgAs. Esta expansión de linfocitos B IgA⁺ estaría estimulada por las bacterias comensales, especialmente la IgAs proveniente de la activación de linfocitos B1 de la cavidad peritoneal, considerados Ac naturales en algunos casos y parte de la respuesta innata. Los probióticos (*L. casei*) estimularían la expansión clonal de linfocitos B IgA⁺.

Colon. Equilibrio de la comunidad bacteriana que se pueden encontrar en el orden de 10¹² por gramo de contenido luminal. Inmunidad de mucosas.

Defecación. Eliminación de bacterias.

Vagina. Epitelio, pH ácido, lactobacilos, lisozima, inhibina.

Esperma. pH alcalino, espermina.

Micción. Eliminación de microorganismos, pH.

Temperatura. La fiebre es un mecanismo innato que se manifiesta ante la infección por acción de pirógenos endógenos liberados por los leucocitos, como las prostaglandinas y ciertas citocinas: interleucina 1 (IL-1) y factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), que estimulan el centro termorregulador y elevan la temperatura corporal. Se ha demostrado que esta elevación de la temperatura favorece los mecanismos de defensa tanto inespecíficos como específicos, especialmente la acción de los interferones (actividad antiviral) y la acción de los linfocitos T (inmunidad específica).

Factores humorales

Distintas sustancias se encuentran en la circulación o en las secreciones, se activan para actuar como herramientas defensivas de la inmunidad innata. Algunas de ellas ya fueron mencionadas anteriormente: beta lisina, fibronolisinas, lisozima, lectinas de unión a manosa (del inglés MBL, actúa como opsonina y activa el complemento por la vía de las lectinas), proteína C reactiva, opsonina, proteína de unión a lipopolisacáridos (LBP), CD14 soluble (se une a LPS y favorece la interacción de éstos con los monocitos y macrófagos que poseen receptores para CD14), defensinas alfa y beta (provocan la lisis de las membranas bacterianas), sistema del complemento (funciones de opsonización, lisis celular, quimiotaxis, acciones proinflamatorias, e interviene en la respuesta humoral) y sistema de quininas: calicreína I (bradiquinina) y calicreína II (sustancias proinflamatorias responsables del edema que, junto con factores del complemento, se relacionan con la cascada de la coagulación).

Factores celulares

Fagocitos profesionales: polimorfonucleares, neutrófilos, eosinófilos, monocitos/ macrófagos. Estas células poseen receptores de membrana que al unirse con ligandos bacterianos o del proceso inflamatorio generan señales intracelulares que inducen la síntesis de diferentes citocinas proinflamatorias. Se han descrito numerosos receptores de esas señales, entre ellos han cobrado importancia en los últimos años los llamados receptores Toll (TLR), homólogos a una proteína de *Drosophila*, con 12 tipos identificados que son necesarios para la respuesta a diferentes bacterias y virus.

Los TLR pueden unirse a LPS, peptidoglucano, ácido lipoteicoico, lipoarabinomano, zimosán, flagelina, proteína de shock térmico 60 (HSP 60) y ARN bicatenario, éste último demuestra que podrían reconocer la replicación viral y generar la señal de activación de la síntesis de interferón tipo I en la célula infectada. Algunos TLR, como el TLR4, actúan ligados a CD14, un receptor de LPS. Inclusive los probióticos (*L. casei*) pueden unirse al TLR2 y estimular el proceso inflamatorio, lo que favorecería la respuesta inflamatoria inespecífica contra otras bacterias.

Células NK (células citotóxicas naturales o células *natural killer* o linfocitos granulares grandes, LGL, CD16⁺ y CD56⁺), que no poseen marcadores T o B y que actúan como antivirales, an-

titumorales e inmunoreguladoras. Son activadas por IL-12 e interferón (INF), entre otras citocinas. Poseen receptores activadores e inhibidores de la actividad NK, y la unión de estos receptores con moléculas clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) puede activar o inhibir la actividad citotóxica de la célula, según el tipo de receptor. Las moléculas CMH clase I son necesarias para presentar el Ag a los linfocitos T citotóxicos y activarlos (ver más adelante); pero en el caso de las células NK no es necesaria dicha presentación y, por el contrario, la unión de estas moléculas con los receptores KIR (*killer inhibition receptor*) produce inhibición de la respuesta NK.

Modulación de la respuesta inmune por probióticos

Dr. Tomás V. Herrero

Se destacan aspectos relacionados con la inmunomodulación comprobada con algunas cepas probióticas. Al asociarse con las bacterias simbióticas de la microflora normal intestinal, los probióticos colaboran en la conformación de un sistema inmune saludable, ya que por acción sobre el sistema inmune de mucosas existe una definida conexión con el sistema inmune general.

- La interacción de probióticos con células epiteliales intestinales (enterocitos) genera citocinas y quimiocinas que inician los eventos inmunomoduladores. Los probióticos han demostrado revertir el incremento de la permeabilidad intestinal aumentada reforzando el efecto barrera del epitelio intestinal y aumentando la síntesis de IgA secretora (IgA1s) específica y no específica. El efecto barrera está ligado también a la capacidad de inhibición de los probióticos de la translocación bacteriana a nivel de la célula epitelial intestinal. Los probióticos *Lactobacillus casei*, *L. rhamnosus GG*, *Bifidobacterium breve*, *Lactobacillus gasseri*, son algunos de los ejemplos estudiados para demostrar esta acción así como la activación general de linfocitos B.

- Son importantes los datos obtenidos sobre el incremento de la actividad fagocítica de leucocitos PMN de sangre periférica y el aumento de la actividad de células *natural killer* (NK) inducido por diferentes cepas de probióticos especialmente BAL. Los *Lactobacillus* estimulan la producción de interferón gamma por leucocitos, y especialmente *L. casei*, la síntesis de IL-12 por macrófagos. Esto sumado a lo referido anteriormente explica también la sinergia de acción antiinfecciosa con otros tratamientos que se demuestra en la diarrea infecciosa y otros cuadros.

- En estudios clínicos y experimentales, los probióticos ayudan a bloquear los cambios promovidos por la inflamación alérgica, induciendo la síntesis de citocinas tipo Th1 (ejemplo: interferón gamma) y células T reguladoras; con la síntesis de citocinas antiinflamatorias como factor de crecimiento TGF- β e IL-10 se tiende a inhibir la respuesta Th2 de pacientes alérgicos. De esta forma

se comprueba: la disminución de la expresión clínica del eccema atópico al ser administrados en forma preventiva a embarazadas alérgicas y a sus hijos, y la modulación de la alergia alimentaria, e inclusive en modelos murinos, de la rinitis alérgica dependientes de IgE y como potenciales adyuvantes de vacunas en mucosas como bacterias lácticas recombinantes asociadas a alérgenos. Comprobando la utilidad preventiva y moduladora de los probióticos en alergia, esto se intenta definir mejor actualmente sobre la base de las cepas utilizadas, así como las dosis, el tiempo y la forma de administración.

- Diferentes cepas probióticas han demostrado, a través de la modulación de la expresión de TLR (TLR2, 4 y 9), variaciones en la activación de células dendríticas y en la síntesis de citocinas pro-inflamatorias como TNF- α e IFN- γ , (que intervienen en la inmunidad antiinfecciosa). A su vez, se ha comprobado que varias cepas específicas de probióticos, junto con la microflora simbiótica, contribuyen al desarrollo de células T colaboradoras (T helper) asociadas con la inducción de tolerancia por la producción de interleucina 10 (IL-10) y TGF- β . La hiporrespuesta de células T y B desarrollada *in vitro* por mezcla de probióticos deprime las respuestas inflamatorias Th1, Th2 y Th17 sin generar apoptosis, apoyando un potencial uso en enfermedad inflamatoria intestinal, y autoinmunidad. La evidencia experimental demuestra un enriquecimiento de células CD4+ Foxp3+ Treg (Treguladoras), inducidas por la administración de probióticos, en sitios de inflamación. Además, los resultados sugieren que, por ejemplo, *L. casei* colabora en el control de la inflamación intestinal por inhibición de la activación de LT proinflamatorios a través de la capacidad de sensibilizar LT para la muerte celular programada (inhibición de genes anti-apoptóticos y controlando la proliferación celular).

Consideraciones sobre probióticos, prebióticos y leche materna

Dra. Etelvina Rubeglio

Probióticos y prebióticos

La importancia que podría tener la incorporación de probióticos y prebióticos en los alimentos para la salud humana es motivo de investigación permanente.

Los prebióticos poseen la singularidad de estimular el desarrollo y la colonización de los microorganismos probióticos en intestino. Por esta simbiosis que ocurre entre ambos se han incluido en productos funcionales dando origen a los *alimentos simbióticos*.

Los probióticos más utilizados son lactobacilos y bifidobacterias, mientras que la mayoría de los compuestos considerados prebióticos son oligosacáridos, entre los que destacan los fructanos (inulina y fructooligosacáridos), lactulosa y otras fibras.

Es importante repasar qué es lo que sucede con los lactantes alimentados con leche materna. Las extraordinarias cualidades que esta alimentación representa no son solamente su mayor digesti-

bilidad o su calidad en micronutrientes sino su condición de prevención para variadas infecciones al estimular la formación de anticuerpos celulares y/o humorales.

- Captación de antígenos por el tejido linfático del intestino.
- Producción de inmunoglobulina IgA secretora, IgM e IgG.
- Presencia de linfocitos T, B, macrófagos.
- Producción de lactoferrina, complemento C3 y C4, lisozima y enzimas lipolíticas.
- Producción de factor bifido que estimula el desarrollo de bifidobacterias.

Este último logra, con el aumento de bifidobacterias, un pH ácido en el intestino del niño que, sumado a la presencia de un considerable nivel de IgA secretoria y otras enzimas, logran impedir la colonización de patógenos intestinales (parásitos, bacterias y virus).

Este factor bifido no es más que un polisacárido similar a un prebiótico que logra que las bifidobacterias en el intestino del lactante constituyan un reaseguro para casi todos los enteropatógenos.

En la edad adulta se va perdiendo la posibilidad de estimular a esta flora y disminuye notoriamente la cantidad de bifidobacterias, que en la ancianidad alcanzan niveles deficitarios.

Si también tenemos en cuenta que ciertos lactobacilos y bifidobacterias aumentan la flora lactoacidófila colónica, la dieta con alimentos funcionales que incluyan probióticos y prebióticos constituye una herramienta valiosísima para disminuir aquellos efectos. Por otra parte, la contribución en la síntesis de nutrientes y su absorción intestinal justifica su incorporación a las dietas en todas las edades.

Sobrecrecimiento bacteriano y probióticos

Dr. Juan A. De Paula

Se denomina sobrecrecimiento bacteriano a la aparición de la flora colónica en intestino delgado (más de 10^5 UFC/ml en intestino delgado) que produce alteraciones en la digestión y absorción de nutrientes, con un intestino delgado macroscópicamente normal. No se observa en jóvenes, y no siempre está asociado a patología orgánica. Las manifestaciones clínicas dependen de la severidad y de su causa; puede ser desde asintomático hasta tener síntomas variados (diarrea, esteatorrea, astenia, dolor, etc.).

El sobrecrecimiento bacteriano se asocia frecuentemente a enfermedad diverticular, subobstrucciones, gastrectomías (en pacientes hospitalizados, aunque también se observa en pacientes ambulatorios), SII (síndrome de intestino irritable), entre otros.

Consecuencias fisiopatológicas

La excesiva colonización bacteriana produce anomalías en el medio intestinal relacionadas con el metabolismo bacteriano, que incluyen:

- Alteraciones del contenido intestinal: déficit de B12 (cobalamina), desconjugación de ácidos biliares con esteatorrea, producción intraluminal de OH, amonio y ácido láctico.
- Modificaciones del epitelio e injuria de la mucosa: disminución de la actividad enzimática por inmadurez de enterocitos, producción de enterotoxinas, alteración de la permeabilidad, respuesta de fase aguda, secreción de mucus.
- Modificaciones del subepitelio.
- Cambios en la motilidad posprandial.

Los efectos sobre el tracto gastrointestinal del sobrecrecimiento bacteriano determinan malabsorción de nutrientes (hidratos de carbono, proteínas, vitaminas liposolubles, etc.) que, sumados a la disminución de la ingesta de alimentos secundaria a los síntomas, pueden comprometer el estado nutricional de los pacientes.

Manifestaciones extra tubo digestivo

- Esteatohepatitis
- Artritis
- Síndrome metabólico
- Obesidad
- Alteraciones emocionales.

Situaciones clínicas asociadas

Niños con diarrea crónica y dolor, fibrosis quística, enfermedad de Crohn, NASH (esteatohepatitis no alcohólica), cirrosis, síndrome de intestino irritable (SII), pancreatitis crónica, etc.

Diagnóstico

Test de hidrógeno espirado.

Tratamiento:

- Los antibióticos son efectivos (rifaximina)
- El agregado de probióticos podría disminuir la recaída.

Se observó beneficio con la administración de los mismos con *L. casei* más *L. acidophilus*. Faltan estudios para determinar el tratamiento adecuado para el sobrecrecimiento bacteriano con la inclusión de probióticos.

Otras consideraciones

- Nueve de cada 10 ancianos con intolerancia a la lactosa padecen de sobrecrecimiento bacteriano, que mejora al mejorar la intolerancia a la lactosa.
- Los pacientes aclorhídricos con diarrea presentan mayor sobrecrecimiento.

Beneficios de probióticos en otras patologías digestivas

- Síndrome de intestino irritable (SII). Posee una prevalencia del 20% en la población mundial, con altos costos para la salud pública; genera, entre otras complicaciones, mala calidad de vida y ausentismo laboral. Se observa sobrecrecimiento bacteriano. El uso de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (*infantis*) mostró respuesta de los síntomas y normalización en

la relación entre citocinas inflamatorias/antiinflamatorias. Se necesitan estudios a largo plazo para confirmar el beneficio del uso de probióticos en SII.

- *H. pylori*. Los probióticos podrían aumentar la eficacia y disminuir la recolonización administrados juntamente con la terapia antibiótica. Se necesitan más estudios para definir la incorporación en el esquema de tratamiento.
- Constipación funcional. El consumo de *B. lactis*, a través de un producto lácteo fermentado, permitió disminuir la dificultad evacuatoria y el “bloating” o sensación de distensión abdominal.

Probióticos: ¿qué tenemos al presente?

Dra. Gabriela Perdigón

Las evidencias presentadas sobre diversas patologías donde el sistema inmune juega un papel preponderante hacen necesario conocer los mecanismos por los que los probióticos, y las leches fermentadas que los contienen, ejercen su efecto adyuvante sobre el sistema inmune mucoso.

La investigación sobre un alimento probiótico específico, leche fermentada con *L. casei DN-114 001*, demuestra que existe:

- Sobrevida de *L. casei DN-114 001* en intestino después de 8 horas de la ingesta.
- Modulación del factor transcripcional NFκB por *L. casei DN-114 001*.
- Aumento de anticuerpos específicos contra patógenos inducidos por la LFP (leche fermentada probiótica) con *L. casei DN-114 001* demostrado en una infección experimental con *Salmonella*.
- Efecto antiproliferativo sobre células epiteliales por otros probióticos.
- Efecto de LFP (leche fermentada probiótica) con *L. casei DN-114001* sobre la microbiota y actividad de enzimas del borde en cepillo en intestino.
- Efecto en el control de diarreas (bacterias y rotavirus) en centros hospitalarios.
- En estrés inducido por factores emocionales.
- Regulación de TNF-α en intestino delgado y mejora de la barrera intestinal.
- Mejoramiento del sistema inmune intestinal en niños y mayores.
- Reducción de CD8+ en inflamaciones de piel.
- Efecto de *L. casei DN-114001* en *H. pylori* en niños e *in vitro* frente a *E. coli* y *Shigella*.
- Modulación de apoptosis en enfermedad de Crohn.
- Efecto de *L. casei* en asma y rinitis.

La adhesión es una condición para considerar a un microorganismo como probiótico, al igual que la interacción con las vellosidades intestinales y la activación de células intestinales inmunes. Una bacteria de la microbiótica no probiótica NO se adhiere y no activa a las células intestinales.

L. casei DN-114001 produjo la activación de las células epiteliales intestinales, hecho que se evidenció por microscopía electrónica, determinándose el aumento de actividad de la célula epitelial con un mayor número de lisosomas inducidos por probióticos.¹

Por método de inmunomarcación con oro coloidal por microscopía electrónica se pudo observar partículas antigénicas pertenecientes a fragmentos de *L. casei* dentro de la célula epitelial, que serían responsables de la activación de dicha célula observada.

Se tienen evidencias de la interacción del *L. casei* o sus partículas antigénicas con las células inmunes asociadas al intestino.

La internalización de la bacteria o de sus fragmentos podría estar mediada por macrófagos o células dendríticas de las vellosidades intestinales. ¿Cuánto tiempo estos antígenos permanecen en el intestino? Demostramos que el tiempo de permanencia tanto en vellosidades como en nódulos es de 72 horas, es decir que en este período se eliminan los antígenos bacterianos o sus fragmentos como ocurre con cualquier Ag particulado a nivel intestinal.

Se ha efectuado un estudio sobre el consumo continuo con leche fermentada (Actimel®), y en el mismo no se observaron efectos adversos como translocación bacteriana. La leche fermentada probiótica (Actimel®) indujo aumento de IL-6 por células epiteliales intestinales (ensayos *ex vivo*) y de las células caliciformes.

Se observó estimulación de la inmunidad de mucosa intestinal por aumento de células IgA (células B IgA+). Éstas podrían representar un alerta inmunológico por ejemplo para patógenos ya que frente a este estímulo, las células B IgA+ pasarían a células plasmáticas productoras de anticuerpos (IgA secretoria) cuya función como protector de la barrera epitelial intestinal está ampliamente estudiada. Ratonos alimentados con la LFP fueron desafiados con *Salmonella*; se observó un aumento de IgA secretoria total, que favorece el mecanismo de vigilancia inmunológica. Esto podría ser de importancia para la protección frente a infecciones con enterobacterias en poblaciones de riesgo.

También se demostró aumento de células IgA+ en bronquios y en glándula mamaria posteriormente a la administración oral de LFP. La LFP indujo un aumento de linfocitos T CD4 y CD8 en lámina propia del intestino sin afectar la relación entre ambos. La administración oral de la bacteria probiótica sola no afecta la población T. Ello da importancia a la matriz en la que se encuentra el probiótico, como es el caso de una leche fermentada.

La LFP también estimula la enzima calcineurina, relacionada con la activación de un factor transcripcional (NFAT) necesario para la producción de citocinas. La conclusión principal basada en las evidencias científicas es que los probióticos y la LFP actúan principalmente sobre la célula epitelial intestinal y las células de la inmunidad innata, MO (*macrófagos*) y células dendríticas asociadas a intestino. El efecto estaría mediado tanto por la fracción bacteriana como la no bacteriana (péptidos, hidratos de carbono, ADN).

La administración prolongada de LFP no afecta la homeostasis del intestino, lo que avala su inocuidad en la administración por largo tiempo.

Queda aún seguir estudiando el/los mecanismo/s inducidos por probióticos y LFP responsable del aumento de la vigilancia observada, focalizando el mismo en la estructura del microorganismo probiótico y determinar cuál es el epítipo o determinante antigénico bacteriano que le da la capacidad de adhesión de las bacterias probióticas. La adhesión debería ser en la bicapa lipídica de la membrana del epitelio intestinal por lo que el ácido lipoteicoico de estas bacterias Gram (+) podría ser la molécula candidata a estudiar.

¿Cuándo resultan necesarios los probióticos?

En deficiencias de la microbiota por:

- Dietas no balanceadas que llevan a malnutrición y alteran la flora.
- Excesiva higiene.
- Uso indiscriminado de antibióticos.
- Disminución de la respuesta inmune mucosa.
- Situaciones de estrés (debido a la capacidad inmunomoduladora de los mismos).

Los desafíos futuros que se presentan en el campo de la investigación son:

- Establecer dosis adecuadas.
- Duración de la ingesta.
- Edad apropiada de la ingesta.
- Interacciones con medicamentos.
- Seguridad a corto, mediano y largo plazo.
- Uso en situaciones especiales (embarazo, prematuridad, inmunodeficiencia, etc.).
- Efectos adversos potenciales como desbalance de la microbiota normal, transferencia de genes de resistencia a antibióticos, etc.
- Estudios clínicos para su uso en grupos subnutridos.
- Beneficios en dermatitis atópicas en niños mediante administración temprana de probióticos.

Glosario

Microbiota: multitud de microorganismos que forman un nicho ecológico específico. Ha reemplazado el término “microflora” comúnmente utilizado en la literatura médica, por ser más adecuado para la definición de microbios.

Cultivos vivos: son microorganismos asociados a alimentos como agentes fermentadores.

Fibra: todos aquellos compuestos alimentarios no digeribles por el ser humano. El término incluye a los prebióticos.

Inulina: polímero de fructosa (más de 10 unidades de monosacáridos) presente naturalmente en numerosos vegetales como la raíz de la achicoria, puerro, ajo, banana, cebada, trigo, miel, cebolla, espárrago y alcaucil.

Fructo-oligosacáridos: oligosacáridos formado por menos de 10 unidades de fructosa. Se obtiene mediante la hidrólisis enzimática parcial de la inulina y se encuentra presente en alimentos como cereales, cebolla, ajo, banana y choclo.

Bibliografía

1. Galdeano CM, de Leblanc A de M, Carmuega E, Weill R, Perdígón G. Mechanisms involved in the immunostimulation by probiotic fermented milk. *J Dairy Res* 2009;76(4):446-454.

Lecturas sugeridas

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Inmunología Celular y Molecular*. 6ta Ed. Elsevier, Madrid, España, 2007.
- Allen SJ, Okoko B, Martinez E, et al. Probiotics for treating infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;(2):CD003048.
- Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen C, Gershwin M. Probiotics and immunity Review *J Gastroenterol* 2009;44:26-46.
- Boyle RJ, Tang ML. The role of probiotics in the management of allergic disease. *Clin Exp Allergy* 2006;36:568-576.
- Carol M, Borrueal N, Antolin M, Llopis M, Casellas F, Guarner F, Malagelada JR. Modulation of apoptosis in intestinal lymphocytes by a probiotic bacteria in Crohn's disease. *J Leukoc Biol* 2006;79:917-922.
- Collins MD, Gibson GR. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am J Clin Nutr* 1999;69:1052-1059.
- Consulta de Expertos FAO/OMS sobre Evaluación de las Propiedades Saludables y Nutricionales de los Probióticos en los Alimentos, incluida la Leche en Polvo con Bacterias Vivas del Ácido Láctico. Informe. Córdoba, Argentina, 1- 4 de octubre de 2001.
- Corthesy B, Gaskins HR, Mercenier A. Cross-talk between probiotic bacteria and the host immune system. *J Nutr* 2007;137:781S-790S.
- Douglas L, Sanders M. Probiotics and prebiotics in dietetics practice. *J Am Diet Assoc* 2008;108:510-521.
- Eiguchi K. Generalidades sobre la inmunidad e inmunidad innata. En: Negróni M. *Microbiología Estomatológica*. Parte 2, Capítulo 14. 2da Edición, Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 2009.
- Fainboim L, Geffner J. *Introducción a la Inmunología Humana*. 5ta edición. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, 2005.
- Ferial Hacini-Rachin, et al. Oral probiotic control skin inflammation by acting on both effector and regulatory T cells. *PLoS ONE* 2009;4(3):e4903. 1-9
- Foligne B, Pot B, et al. Correlation between in vitro and in vivo immunomodulatory properties of lactic acid bacteria. *World J Gastroenterol* 2007;13(2):236-243.
- Galdeano CM, de Leblanc A de M, Carmuega E, Weill R, Perdígón G. Mechanisms involved in the immunostimulation by probiotic fermented milk. *J Dairy Res* 2009;76(4):446-454.
- Guías prácticas de la Organización Mundial de Gastroenterología Probióticos y Prebióticos, Mayo 2008.
- Hickson M, D'Souza AL, Muthu N, et al. Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial. *BMJ* 2007;14:335:380.
- Hoveyda N, Heneghan C, Mahtani KR, et al. A systematic review and meta-analysis: probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterology* 2009;9:15.
- Isolauri E, Arvola T, Satas Y, Moilanen E, Salminen S. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy* 2000;30:1604-1610.
- Isolauri E. Probiotics in human disease. *Am J Clin Nutr* 2001;73:1142S-1146S.
- Kalliomäki M, Antoine JM, Herz U, Rijkers GT, Wells JM, Mercenier A. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: prevention and management of allergic diseases by probiotics. *J Nutr* 2010;140(3):713S-21S. Epub 2010 Feb 3.
- Kindt JT, Goldsby RA, Osborne BA. *Kuby Immunology*. 6th Edition. W.H. Freeman and Company. New York, USA. 2006.
- Kwon Hk, Im SH, et al. Generation of regulatory dendritic cells and CD4+Foxp3+ T cells by probiotics administration suppresses immune disorders. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(5):2159-64. Epub 2010 Jan 13.

- Lee J, Seto D, Bielory L. Meta-analysis of clinical trials of probiotics for prevention and treatment of pediatric atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:116-121.
- Marcos A, Wärnberg J, Nova E, Gómez S, Alvarez A, et al. The effect of milk fermented by yogurt cultures plus *Lactobacillus casei* DN-114001 on the immune response of subjects under academic examination stress. *Eur J Nutr*. 2004; 6:381-389. Epub 2004 Jul 14.
- Mombelli B, Gismondo MR. The use of probiotics in medical practice. *Int Antimicrob Agents* 2000;16:531-536.
- O'Mahony L, McCarthy J, Kelly P, Quigley EM et al. *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* in irritable bowel syndrome: symptom responses and relationship to cytokine profiles. *Gastroenterology*. 2005 Mar;128(3):541-551.
- Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim H-Y. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. Review. *Journal of Applied Microbiology* 2006;100:1171-1185.
- Prioult G, Fliss I, Pecquet S. Effect of probiotic bacteria on induction and maintenance of oral tolerance to beta-lactoglobulin in gnotobiotic mice. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:787-792.
- Riveron Corteguera R. Valor inmunológico de la leche materna. *Revista Cubana de Pediatría* 1998;67:2.
- Roberfroid MB. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am J Clin Nutr*. 2000;71:1682-1687.
- Round JL, Mazmanian Sarkis K. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nature Reviews Immunology* 2009. | Aop, published online 3 April, 1-11.
- Ruedemele FM, et al. Clinical Evidence for immunomodulatory effects of probiotic bacteria. Review. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2009;48:126-141.
- Ruperez P. Oligosacáridos bifidogénicos. *Food science and technology international* 1998;4:237-243.
- Sanz Y, De Palma G. Gut microbiota and probiotics in modulation of epithelium and gut-associated lymphoid tissue function. *International Reviews of Immunology* 2009;28:397-413.
- Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, et al. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis* 2006;6:374-82.
- Schabussova I, Wiedermann U. Lactic acid bacteria as novel adjuvant systems for prevention and treatment of atopic diseases. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* 2008;8:557-564.
- Sunada Y, Nakamura S, Kamei C. Effects of *Lactobacillus acidophilus* strain L-55 on experimental allergic rhinitis in BALB/c mice. *Biol Pharm Bull* 2007;30:2163-166.
- Vaarala O. Immunological effects of probiotics with special reference to lactobacilli *Clin Exp Allergy* 2003;33:1634-1640.