

ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

REVISTA FARMACÉUTICA REVIEWS



1858 - 2011

Revista Farmacéutica 153 N° 1-2 (2011) ISSN 0034-9496

B u e n o s A i r e s - A r g e n t i n a

Volumen 153
N° 1-2
2011



Fundada en 1858

**COMITÉ DE PUBLICACIÓN
EDITORIAL BOARD**

Coordinador

Miguel D'Aquino

Secretario

Gabriel Gutkind

Miembros

Miguel Caso
Luis E. Díaz
Manuel Limeres
Mario A. Los
Ronaldo Meda
Marcelo C. Nacucchio
Maria Luz Pita Martín
Modesto C. Rubio
Marta M. Salseduc
Marcelo Squassini

Editada por la
**Academia Nacional
de Farmacia y Bioquímica**

Junín 956 - P. P.
Tel./Fax: (011)4964-8213
Buenos Aires
acad@ffyb.uba.ar

Dirección postal
Junin 956 P.P.

1113 Buenos Aires - Argentina
<http://www.ffyb.uba.ar/academia/infex.htm>

Diseño y composición láser
Tall. Gráf. Su Impres S.A.

La presente edición
se terminó de imprimir en
Tall. Gráf. Su Impres S.A.
Tucumán 1480 C.A.B.A.
Tel./Fax: 4371-0029/0212

**REVISTA
FARMACÉUTICA
REVIEWS**

Editada por la
Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica
Personería Jurídica N°1 762-30/8/1968

CONSEJO DIRECTIVO 2011

Presidente

Acad. Carlos M. Baratti

Vicepresidente

Acad. Miguel Ángel Caso

Secretario General

Acad. Gabriel Mato

Prosecretario

Acad. Marta M. Salseduc

Tesorero

Acad. Ronaldo Meda

Protesorero

Acad. Miguel D'Aquino

Vocales Titulares

Acad. Carlos A. Gotelli
Acad. Juan P. Rossi

Vocales Suplentes

Acad. Otmario Roses
Acad. Modesto C. Rubio

Revisores de Cuentas

Acad. Alfredo A. Hager
Acad. Eloy L. Mandrile
Acad. Francisco J. Stefano

Las ideas que se exponen en el Reviews son de exclusiva responsabilidad de los autores y no reflejan necesariamente la opinión de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica.

ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

ACADÉMICOS TITULARES		
Acad. Sem M. Albonico	Acad. Tomás de Paoli	Acad. Marcelo C. Nacucchio
Acad. María Cristina Anón	Acad. Luis E. Díaz	Acad. Edgardo Poskus
Acad. Carlos M. Baratti	Acad. Carlos H. Gaozza	Acad. Rubén V. D. Rondina
Acad. Mirta J. Biscoglio	Acad. Héctor I. Giuliani	Acad. Otmáro E. Roses
Acad. Alberto A. Boveris	Acad. Carlos A. Gotelli	Acad. Juan Pablo F. C. Rossi
Acad. Carlos Bregni	Acad. Gabriel O. Gutkind	Acad. Modesto C. Rubio
Acad. Rodolfo Brenner	Acad. Alfredo A. Hager	Acad. José Alberto Santomé
Acad. Néstor O. Caffini	Acad. Silvia Hajos	Acad. Alfredo Salibian
Acad. Clyde N. Carducci	Acad. Mario A. Los	Acad. Marta M. Salseduc
Acad. Ricardo A. Caro	Acad. Eloy L. Mandrile	Acad. Francisco J. E. Stéfano
Acad. Miguel A. Caso	Acad. Horacio José Gabriel Mato	Acad. María G. Volonté
Acad. Miguel D'Aquino	Acad. Ronaldo Meda	Acad. Regina L. W. de Wikinski
ACADÉMICOS EMÉRITOS		
Acad. Arnaldo L. Bandoni	Acad. Mateo Chekherdeman	Acad. Juan C. Sanahuja
✠ Acad. Osvaldo D. Castrelos	Acad. Enrique Ióvine	Acad. Antonio Somaini
Acad. Jorge D. Coussio	Acad. Alejandro C. Paladini	Acad. Horacio B. Rodríguez
Acad. Héctor M. Chechile		
ACADÉMICOS HONORARIOS		
BRASIL	ESPAÑA	ITALIA
Acad. Evaldo de Oliveira	Acad. Benito del Castillo García	Acad. Rodolfo Paoletti
	Acad. Federico Mayor Zaragoza	
	Acad. M. Teresa Miras Portugal	
	✠ Acad. Juan Manuel Reol Tejada	
ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES		
Acad. Aníbal Amat	Acad. Rubén H. Manzo	Acad. Gabriela del Valle Perdigón
Acad. Marcelo O. Cabada	Acad. Modesto R. Montecchia	Acad. Hugo G. Pérez
Acad. Osear H. Fay	Acad. Aldo Mottino	Acad. M. Luz Pita Martín de Portela
Acad. Raúl C. Fazio	Acad. Elsa María Nadalin	Acad. Clelia M. Riera
Acad. Aída Pesce de Ruiz Holgado	Acad. Jorge O. Nicolini	Acad. Alfredo Salibian
Acad. Manuel Limeres	Acad. Otto Orsingher	Acad. Marcelo Squassini
Acad. Guillermo Lossa	Acad. Ana María Pechen D'Angelo	

ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES EN EL EXTRANJERO

ALEMANIA

Acad. Pablo Steinberg

BRASIL

Acad. Aluisio Pimenta

Acad. Caio Romero Cavalcanti

CHILE

Acad. Aquiles Arancibia Orrego

Acad. Marco A. Montes Guyot

Acad. Rosa I. Moran Gana

Acad. Wanda Quilhot Palma

COLOMBIA

Acad. Fleming Martinez Rodríguez

CUBA

Acad. Ricardo Galvis

Acad. Héctor Zayas Bazán y Perdomo

ECUADOR

Acad. Julio E Aráoz

Acad. Eduardo Goetchel

ESPAÑA

Acad. María del Carmen Francés Causapé

Acad. Tomás Adzet Porredón

Acad. Francisco Zaragoza García

Acad. Eduardo Mariño Hernández

Acad. Miguel Ylla Cátala Genis

Acad. Antonio Monge Vega

ESTADOS UNIDOS

Acad. Jorge R. Barrio

Acad. Jorge D. Briolini

Acad. Marcel E. Nimni

FRANCIA

Acad. Jean Marc A'iache

Acad. Paul Fleury

Acad. Carlos Soto

ITALIA

Acad. Stefano Govoni

MÉXICO

Acad. Pedro Joseph-Nathan

PANAMÁ

Acad. Ceferino Sánchez

PARAGUAY

Acad. Luis H. Berganza

PERÚ

Acad. Bertha P. Pareja

Acad. José Amiel Pérez

Acad. Fernando Quevedo Ganoza

URUGUAY

Acad. Jorge Ares Pons

Acad. Cayetano Cano Marotta

Acad. Cosme de los Santos Carvallido

Acad. Uberfil Delbene Garate

Acad. Pietro Fagiolino

Acad. Raquel Lombardo de Bertolaza

Acad. Justo Emilio Menes

Acad. Patrick Moyna

Acad. Aníbal Alberto Olmos Ferreira

Acad. Osear Polla Bermúdez

Acad. Joaquín E. Royer Meicoso

VENEZUELA

Acad. José Luis Andrade

ACADEMIA NACIONAL
DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



REVISTA
FARMACÉUTICA
REVIEWS

Vol. 153 (Nº 1-2) Año 2011
SUMARIO

LAS ACADEMIAS DE FARMACIA COMO ORGANOS DE OPINION Y CONSULTA DE LOS PROBLEMAS DE LA SOCIEDAD ACTUAL.
Baratti CM, Rubio MC, Nacucchio MC, D'Aquino M. 5

COMPOSICION DE LAS FORMULAS PARA NUTRICIÓN PARENTERAL.
PARENTERAL NUTRITION FORMULAE COMPOSITION.
Ana María Menéndez, María Luz Pita Martín de Portela 11

EL PAPEL DEL FARMACÉUTICO EN EL SISTEMA DE SALUD A TRAVÉS DE LA HISTORIA.
THE ROLE OF THE PHARMACIST IN THE HEALTH SYSTEM THROUGH HISTORY.
Mariano Guillermo Blake, Mariano Martín Boccia, María del Carmen Krawczyk y Carlos María Baratti 33

ADITIVOS ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS EN ALIMENTOS, FÁRMACOS Y COSMÉTICOS.
POSIBLES EFECTOS ADVERSOS
Miguel D'Aquino 43

FARMACOTERAPIAS ACTUALES Y FUTURAS PARA EL TRATAMIENTO DEL AUTISMO.
CURRENT AND FUTURE PHARMACOTHERAPY IN THE TREATMENT OF AUTISM.
Analía Gabriela Reinés 59

BIOQUÍMICA DE LA RESISTENCIA A INSECTICIDAS EN INSECTOS
VECTORES DE ENFERMEDADES HUMANAS.
BIOCHEMISTRY OF INSECTICIDE RESISTANCE IN HUMAN DISEASE VECTOR- INSECTS.
Pablo L. Santo Orihuela 69

PROTEÍNAS "DESESTRUCTURADAS": ¿PATOLOGÍA O SALUD?
"UNSTRUCTURED" PROTEINS: PATOLOGY OR HEALTH?
Néstor O. Caffini 83

INFLUENCIA DE LA PROTEÍNA DE RESISTENCIA DEL CÁNCER DE MAMA (BCRP)
EN LA FARMACOCINÉTICA DE LOS ANTIRRETROVIRALES.
Roxana Noemí Peroni..... 91

LAS β -LACTAMASAS COMO EJEMPLO DE VERSATILIDAD AL SERVICIO DE
LA RESISTENCIA BACTERIANA.
Pablo Power, José Di Conza, Gabriel Gutkind 103

BACTERIAS Gram (+) PROBIOTICAS: INFLUENCIA SOBRE EL SISTEMA INMUNE
Carolina, Maldonado Galdeano y Gabriela Perdigón 123

**SE AGRADECE ESPECIALMENTE LA COLABORACIÓN
PRESTADA POR EL LABORATORIO MONSERRAT Y ECLAIR S.A
EN LA DISTRIBUCIÓN DE ESTE NÚMERO EN TODO EL PAÍS.**

COOPERARON PARA LA EDICION DE ESTE VOLUMEN 2011

Laboratorios ABBOTT S.A

Laboratorios BAGO S.A

Laboratorios BALIARDA S.A

Laboratorios BRITANIA S.A

CAMARA ARGENTINA DE ESPECIALIDADES
MEDICINALES (CAEME)

Laboratorio CASASCO S.A

Laboratorio GADOR

Droguería del Sur

Novo Nordisk Pharma Argentina S.A

Laboratorios ROUX-OCEFA

ASOCIACIÓN ARGENTINA DE FARMACIA Y
BIOQUIMICA INDUSTRIAL (SaFyBI)

Laboratorios WIENER S.A

BACTERIAS Gram (+) PROBIOTICAS: INFLUENCIA SOBRE EL SISTEMA INMUNE

Carolina, Maldonado Galdeano^{1,2} y Gabriela Perdigón^{1,2 *}

1-Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-CONICET). Chacabuco 145, San Miguel de Tucumán (T4000ILC) Tucumán. Argentina.

2-Cátedra de Inmunología. Instituto de Microbiología. Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Universidad Nacional de Tucumán, Argentina.

Tabla de contenidos

RESUMEN-SUMMARY	123
INTRODUCCIÓN	124
PROBIOTICOS	125
- SISTEMA INMUNE MUCOSO. GENERALIDADES	125
- INFLUENCIA DE BACTERIAS PROBIÓTICAS Y LECHES FERMENTADAS SOBRE LA RESPUESTA INMUNE	126
- ACTIVIDAD ANTITUMORAL DE LOS PROBIOTICOS Y LECHES FERMENTADAS	129
- MECANISMOS IMPLICADOS EN LA IMMUNOESTIMULATION POR LAS BACTERIAS PROBIÓTICAS	130
- PERSPECTIVAS FUTURAS PARA VALIDAR EL EMPLEO DE MICRO- ORGANISMOS PROBIÓTICOS COMO ADYUVANTES ORALES	132
- REFERENCIAS	133
AGRADECIMIENTOS	136

RESUMEN

La microbiota intestinal juega un papel importante en el desarrollo y maduración del sistema inmune de mucosas. Entre la gran población de bacterias que forman parte de la misma, se encuentran las bacterias ácido lácticas y las bifidobacterias, las cuales son usadas frecuentemente como probióticos debido a los beneficios sobre la salud atribuidos a las mismas.

Para mantener la homeostasis intestinal es imprescindible el balance de esta microbiota, el cual puede ser afectado por una gran cantidad de factores como tratamiento con antibióticos, stress, quimioterapia y por la dieta entre otros. De allí que surge la posibilidad de emplear a los microorganismos probióticos presentes en

muchos alimentos para mejorar el balance intestinal y actuar como adyuvantes del sistema inmune.

Conocer el mecanismo por el cual estas bacterias pueden tener efecto sobre el sistema inmune es de importancia para poder utilizarlos de modo correcto. Los estudios realizados muestran que dichos microorganismos ayudan a reforzar las defensas naturales a nivel de mucosas para mantener en estado de alerta permanente al sistema de defensa, de manera que la respuesta frente a un estímulo sea rápida y controlada.

PALABRAS CLAVES: *microbiota intestinal, probióticos, sistema inmune intestinal*

SUMMARY

PROBIOTICS GRAM (+) BACTERIA: INFLUENCE ON THE IMMUNE SYSTEM

The intestinal microbiota plays an important role in the development and maturation of the mucosal immune system. Lactic acid bacteria are constituents of the microbiota and they are frequently used as probiotics due of the health benefits attributed to them.

To maintain intestinal homeostasis is essential the balance of this microbiota. This balance can be affected by many factors such as antibiotics, stress, diet quiomoterapia and others. Hence arises the possibility of using

the probiotic microorganisms present in many foods to improve intestinal balance and act as immune adjuvants.

The Knowledge the mechanism by which these bacteria may have an effect on the immune system is important to use them correctly. Studies show that these organisms help reinforce the natural defenses at mucosal to maintain constant alertness to the defense system, so that the response to a stimulus is rapid and controlled manner.

KEY WORDS: *microbiota intestinal, probiotics, immune system*

INTRODUCCIÓN

El tracto gastrointestinal puede considerarse un complejo ecosistema que alberga una gran cantidad de microorganismos aerobios y anaerobios que coexisten de manera simbiótica y conforman lo que se conoce con el nombre de microbiota.

Al nacer el intestino es estéril y a medida que transcurren las horas comienza el proceso de colonización bacteriana del tracto intestinal. Este proceso es el resultado de la compleja interacción entre el huésped y los microorganismos del medio externo (1). Los primeros microorganismos en colonizar el intestino son aerobios facultativos, pero a medida que el oxígeno es consumido, comienzan a crecer microorganismos anaerobios estrictos (2). Así la composición de la microbiota en los recién nacidos estará determinada por diversos factores en el momento del nacimiento.

La microbiota intestinal tiene un importante papel en el desarrollo y funcionalidad del sistema inmune, el cual fue demostrado mediante el uso de animales gnotobioticos y libres de gérmenes. Estudios realizados usando ratones como modelo experimental mostraron que el número de células IgA+ en la lámina

propia de las vellosidades era significativamente menor en animales libres de gérmenes en comparación con los animales convencionales, sugiriendo estos resultados la importancia del establecimiento de la microbiota en el normal desarrollo del sistema inmune intestinal (3). Estudios similares usando animales gnotobioticos colonizados con bacterias Gram (+) o con bacterias Gram (-) mostraron que el número de células IgA+ es dependiente también de la cepa bacteriana que coloniza el intestino (4).

Se ha sugerido recientemente que varias enfermedades complejas y multifactoriales como alergia, periodontitis, artritis reumatoide y cáncer de colon tienen como mecanismo etiopatogénico, el desbalance de la microbiota intestinal (5). Por otro lado, la microbiota posee bacterias con propiedades beneficiosas para el huésped entre ellas las bacterias ácido lácticas y las bifidobacterias, algunas de ellas con propiedades probióticas.

Se sabe que la composición de la microbiota intestinal, puede modificarse por varios factores externos como la dieta, el uso de antibióticos, la quimioterapia, la tensión, el stress,

etc. (6, 7), en este sentido el consumo de suplementos probióticos nos ofrece la posibilidad de mejorar el desbalance de la microbiota y ayudar de ese modo a mantener un buen estado de salud del huésped.

PROBIOTICOS

La palabra probiótico relacionada a suplementos alimentarios fue utilizada por Parker en 1974 (8), no obstante la historia de los suplementos microbianos vivos y el concepto de probióticos adicionados a leches fermentadas ha continuado evolucionando hasta nuestros días. Recientemente la FAO definió a los probióticos como microorganismos vivos que cuando se administran en dosis apropiadas, confieren un beneficio en la salud a quien lo recibe (9).

Los efectos beneficiosos del yogur fueron demostrados a principios del siglo pasado por Ellie Metchnikoff, quien desempeñó un papel dominante en este proceso, a través de su libro "la prolongación de la vida" publicada en 1907 (10). Los beneficios atribuidos a los probióticos son numerosos, entre ellos se incluyen, resistencia a enfermedades infecciosas, prevención de cáncer, disminución de los síntomas de la intolerancia a la lactosa y disminución de la respuesta inflamatoria. (11, 12). Los microorganismos considerados probióticos pertenecen en su mayoría a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, donde los lactobacilos juegan un papel preponderante. En la mayoría de los efectos atribuidos a los probióticos, el sistema inmune juega un papel dominante, y puesto que estas bacterias se ingieren generalmente como parte de la dieta diaria, empleando ratones BALB/c como modelo experimental, se estudió el efecto de las mismas sobre el sistema inmune sistémico y de mucosas, para establecer las bases científicas del uso de probióticos.

Aunque no todos los resultados de los modelos animales se pueden extrapolar al ser humano, la mayor parte de ellos son útiles en la comprensión de los diversos procesos donde está implicado el sistema inmune. En este sentido el valor de los estudios hechos en animales de experimentación es innegable.

Si los probióticos tienen potencial para prevenir enfermedades donde el sistema inmune desempeña un papel fundamental, la pregunta fue: ¿estos microorganismos pueden influenciar el comportamiento del sistema inmune?. Esta pregunta surge a raíz del conocimiento de que, la administración oral de un antígeno puede inducir o inhibir la respuesta inmune de mucosa (activación o tolerancia). Por otra parte un inmunomodulador oral, no debe inducir un efecto inflamatorio intestinal o alterar el balance de la microbiota intestinal, hecho que podría llevar a la translocación de bacterias más allá del intestino. Es imprescindible conocer el funcionamiento del Sistema Inmune Mucoso (SIM) para sugerir el empleo de microorganismos probióticos como adyuvantes orales.

SISTEMA INMUNE MUCOSO.

GENERALIDADES

Las superficies mucosas están en contacto directo con el ambiente externo y son por ende altamente vulnerables a la penetración, colonización e invasión de microorganismos particularmente patógenos. Sin embargo la entrada de antígenos es regulada por mecanismos inmunológicos inespecíficos en el tracto gastrointestinal así como la estructura física del propio epitelio. Las primeras barreras que actúan cuando ingresa un antígeno extraño por vía oral son la microbiota intestinal y el epitelio. Las células epiteliales permanecen unidas mediante uniones estrechas y forman

una barrera que impide el paso de los microorganismos nocivos. Las secreciones intestinales: enzimas, bacteriocinas, e inmunoglobulinas, están implicadas en la defensa del huésped conjuntamente con la microbiota y el peristaltismo intestinal que hacen dificultosa la adhesión de los microorganismos al epitelio, paso fundamental en toda invasión (13). El intestino tiene además un sistema inmune complejo asociado a mucosas que es capaz de tolerar la carga masiva de antígenos dietarios y de los microorganismos comensales que colonizan el aparato gastrointestinal, al mismo tiempo que puede reconocer y rechazar los microorganismos enteropatógenos que desafían las defensas del cuerpo. Este tejido linfoide está organizado en sitios inductores de la respuesta inmune (placas de Peyer (PP) en intestino delgado y nódulos linfoides en intestino grueso) y por sitios efectores (lámina propia y criptas), donde se encuentran todas las células del sistema inmune.

Para que las células inmunes asociadas a intestino se activen, éstas deben tomar contacto con el antígeno, el cual puede ingresar a través de diferentes vías, enterocitos, células M de PP (14), células dendríticas, para ponerse en contacto con las células del sistema inmune intestinal.

Una de las principales inmunoglobulinas que se producen a nivel de mucosas en respuesta al antígeno es la IgA secretoria. Se ha demostrado que la resistencia a la infección está relacionada directamente con la producción de anticuerpos IgA secretoria (15). Las células B IgA+ estimuladas por los antígenos pueden migrar por vía linfática al nódulo mesentérico y de allí pasar a vía sanguínea por el conducto torácico. Esta migración celular constituye el ciclo de la IgA, donde los LB IgA+ pueden repoblar, además de la lámina propia

del intestino, otros tejidos mucosos distantes (bronquios y glándulas mamarias) (16).

INFLUENCIA DE BACTERIAS PROBIÓTICAS Y LECHE FERMENTADAS SOBRE LA RESPUESTA INMUNE

Considerando estos conocimientos, se estudió la influencia de la administración oral de diferentes cepas consideradas probióticos (*Lactobacillus (L) casei* CRL 431, *Lactobacillus (L) acidophilus* CRL 724, *Lactobacillus (L) delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL 423 y *Streptococcus thermophilus* CRL 412) y de leches fermentadas conteniendo probióticos sobre el sistema inmune, no solo a nivel de mucosa intestinal sino también se evaluó el efecto de los mismos sobre el sistema inmune sistémico.

En primer lugar se determinó si la administración oral de estos microorganismos produce efectos secundarios, tales como la inducción de una respuesta inflamatoria intestinal o translocación bacteriana a hígado y bazo. También se evaluó el efecto de estos probióticos sobre el sistema inmune de mucosas en huéspedes normales e inmunosuprimidos por desnutrición. Por otro lado, para medir el efecto sobre la mucosa intestinal se estudió el perfil de citoquinas inducido por las bacterias ensayadas y las células IgA+ en la lámina propia del intestino y en otros sitios mucosos distantes como bronquios y glándulas mamarias, para determinar la capacidad de estas bacterias de inducir el ciclo de la IgA. También se evaluó si estas poseen efecto protector frente a una infección con enterobacterias.

Se estudió la actividad antitumoral de la cepa de *L. casei* en un tumor no-intestinal (fibrosarcoma) y la actividad anti carcinogénica de leches fermentadas: como yogur, en un modelo de cáncer intestinal y se determinaron los posibles mecanismos involucrados.

Se realizaron estudios en ratones normales, sin patología de base, tendientes a determinar los mecanismos por los cuales las bacterias probióticas activan las células inmunes asociadas a intestino. Esto incluyó el estudio de la interacción de probiótico con la célula epitelial intestinal y con las células inmunes intestinales, las señales biológicas que se inducen como consecuencia de la interacción, tiempo de permanencia de las bacterias en el intestino, importancia de la especificidad de especie y de la viabilidad de la bacteria probiótica en dicha estimulación.

Considerando que el consumo de probióticos y leches fermentadas es propuesto actualmente como parte de la dieta diaria, se evaluó la influencia de la administración de probióticos durante períodos prolongados sobre el SIM.

Se realizaron estudios para determinar la importancia de la administración de probióticos y una leche fermentada en la prevención frente a una infección con *Salmonella* entérica serovar. Typhimurium.

Los resultados obtenidos demostraron la inocuidad del consumo de bacterias probióticas o leches fermentadas ya que no hubo traslocación a hígado y bazo así como hepatomegalia o esplenomegalia, sin embargo se observó aumento de la respuesta inmune humoral y celular (17, 18, 19, 20).

La administración oral de las bacterias ácidos lácticas (*L. casei*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. termophilus*) produjo activación de los macrófagos peritoneales y aumentó la respuesta inmune humoral y celular, evidenciada por la activación de linfocitos T y B (17, 18). Estos estudios concuerdan con otros autores (21).

Estudios histológicos realizados en intestino delgado de ratones sanos que recibieron

la administración oral de *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *S. termophilus* mostraron aumentos en la celularidad en lámina propia del intestino, siendo ese aumento predominantemente de células mononucleadas, sin embargo los aumentos observados no modificaron la histología normal del intestino. (19, 22). Estudios realizados con anticuerpos específicos para determinar que células estaban aumentadas, mostraron incrementos importantes en el número de células productoras de citoquinas y de IgA. Todo esto estuvo acompañado de elevados niveles de Bcl2, proteína responsable de la activación celular (23).

Todas las bacterias estudiadas indujeron un perfil de citoquinas diferente, en donde se observaron aumentos en el número de células positivas tanto de citoquinas reguladoras (IL-4 e IL-10) como pro-inflamatorias (IL-12, IL-6 IFN γ TNF α). Sin embargo, la producción de citoquinas proinflamatorias estuvo siempre regulada por IL-10 e IL-4, mientras que no se observaron aumentos en el número de células IL-2+ (23, 24, 25). Para otras bacterias probióticas también se ha descripto que las mismas aumentan el número de células secretoras de citoquinas asociadas a lamina propia del intestino (26).

Se estudió la influencia de la administración del probiótico *L. casei* en el equilibrio Th1/Th2 para un antígeno protéico (ovoalbúmina), en donde los resultados mostraron un claro balance hacia la respuesta Th2 (23). El balance Th2 también fue influenciado por otras bacterias probióticas (27).

La administración oral de *L. casei* indujo aumentos en el número de células IgA+ en lamina propia de intestino y en bronquios; el efecto fue siempre dependiente de la dosis. Esta bacteria además fue capaz de aumentar el número de células IgA+ en glándulas mama-

rias. Esta evidencia demuestra que la administración oral de bacterias probióticas aumenta la inmunidad de las mucosas no sólo a nivel intestinal sino también a nivel de bronquios y de glándulas mamarias, es decir inducen el ciclo de la IgA (28, 29).

En un modelo experimental de desnutrición inducido en ratones BALB/c por una dieta carente de proteína (PEM), se demostró que la administración de yogur convencional o de una cepa probiótica (*L. casei*), pueden mejorar la estructura histológica del intestino evitando la traslocación bacteriana y mejorando la resistencia frente a una infección con enteropatógenos como *Salmonella* y *Escherichia coli*. También se induce la recuperación de la actividad fagocítica de los macrófagos peritoneales (30, 31).

Con respecto a este último punto, se sabe que las infecciones entéricas con etiología bacteriana son un problema de salud mundial, y son la causa principal de mortalidad infantil en países subdesarrollados constituyendo un riesgo permanente para el viajero. El uso extenso de antibióticos en salud pública no es recomendado debido a las complicaciones que ello puede traer posteriormente, como droga-resistencia y toxicidad crónica. Actualmente no hay vacunas orales eficaces que protejan contra diarreas de etiología diversa. Es por ello que la administración oral de las bacterias probióticas para prevenir estas enfermedades, resulta una posibilidad atractiva. Los lactobacilos y las bifidobacterias tienen una larga historia como agentes bioterapéuticos seguros y siguen siendo las bacterias mas comunes usadas como suplementos dietarios. Los mecanismos sugeridos por el cual los probióticos pueden ejercer su efecto protector o terapéutico contra los enteropatógenos incluyen, la competición por sitios de adhesión, la producción de metabolitos inhibitorios, agentes anti-

microbianos contra patógenos, la modulación de la producción de la toxina o la modulación de la respuesta inmune del huésped (32). Este conocimiento llevó a estudiar el efecto de la administración de probióticos en una infección entérica causada por *Escherichia coli* enteroinvasiva y por *Salmonella* Typhimurium. Se realizaron estudios *in vitro* y *ex vivo* para tratar de dilucidar los mecanismos implicados en la capacidad preventiva observada contra las bacterias enteropatógenas. Los resultados demostraron que la administración oral de *L. casei* o de *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* durante 7 días, protegió a los ratones contra la infección con *Salmonella* (33, 34). *L. casei* fue el único en prevenir la infección con *E. coli*, siendo uno de los mecanismos involucrados en este proceso el aumento de los niveles de IgA-secretoria específica para la bacteria patógena. Este efecto protector fue dosis dependiente. Igual efecto se observó cuando se administró una leche fermentada con la cepa probiótica *L. casei* (35). La actividad protectora de probióticos frente al patógeno *Salmonella* Typhimurium también ha sido descripta por otros autores (36).

Entre los mecanismos más importantes observados en la protección frente a *Salmonella* ejercida por *L. casei* se puede mencionar una mayor activación de las células epiteliales de intestino, evidenciadas por un aumento tanto *in vitro* como *ex vivo* en la producción de IL-6 y MCP-1 por estas células. Esto va acompañado de un aumento en la actividad fagocítica de células presentadoras de antígenos (macrófagos y células dendríticas) en el sitio inductor de la respuesta inmune (placa de Peyer), y de aumentos en la producción de IgA específica para el patógeno *Salmonella*, esto ayuda a la resistencia contra la infección observada en los ratones tratados con la cepa probiótica (34).

Las diferencias encontradas con otros autores en relación al efecto protector frente a enterobacterias son debidas en gran parte a que la biología de la infección es característica para las distintas bacterias enteropatógenas. *Salmonella* demuestra mayor afinidad para las células M de las placas de Peyer del intestino delgado, que son la puerta principal de entrada. La capacidad de *Salmonella* de sobrevivir dentro de las células fagocíticas permite que el patógeno evada al sistema inmune del huésped e invada tejidos más profundos. Los macrófagos y los neutrófilos mueren por apoptosis. Este último proceso es un paso importante en la patogénesis de la infección por *Salmonella*.

Los mecanismos implicados en este proceso (además de la s-IgA secretoria específica) fueron dependientes de la cepa empleada. Así entre ellos se pueden mencionar la inhibición celular de la apoptosis de macrófagos infectados, en el caso de animales que recibieron *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* o *S. thermophilus* pero no con *L. casei*. Otro de los mecanismos involucrados es la liberación de radicales oxidantes, como el peróxido de hidrogeno, por los macrófagos peritoneales estimulados con cualquiera de las tres cepas antes mencionadas (33, 37).

ACTIVIDAD ANTITUMORAL DE LOS PROBIOTICOS Y LECHE FERMENTADAS.

Los mecanismos implicados en el crecimiento tumoral son muy complejos y escapan a la vigilancia inmunológica, es por ello que las terapias adyuvantes preventivas son más importantes que su empleo como terapéutico. El uso de bacterias probióticas o leches fermentadas con capacidad inmunomoduladoras en la prevención o en el retraso del crecimiento tumoral, son una posibilidad atractiva de

reducir el riesgo de cáncer. Sobre este aspecto numerosos autores han publicado sobre los efectos beneficiosos de los probióticos en diferentes tipos de cánceres (38).

En el laboratorio se usó un modelo experimental y considerando la capacidad inmunomoduladora de *L. casei*, se determinó el efecto de este microorganismo sobre la inhibición de un tumor no-intestinal inducido químicamente con metilcolantreno (fibrosarcoma). También se analizó el efecto inhibitorio del yogur en la iniciación o en la promoción de un cáncer de colon químicamente inducido con dimetilhidrazina (DMH) y estudiamos los posibles mecanismos implicados en la actividad antitumoral.

La administración oral de *L. casei* fue capaz de inhibir el crecimiento del fibrosarcoma inducido con metilcolantreno. El mejor efecto fue alcanzado con las dosis más bajas (2×10^9 células). Los estudios realizados concluyeron en que la actividad antitumoral observada con *L. casei* fue debida a que esta cepa es capaz de activar al sistema inmune, hecho que se vio reflejado en una mayor actividad de los macrófagos infiltrados al tumor, los cuales mostraron altos niveles en la producción de TNF α con disminución de la capacidad citotóxica (39).

El efecto negativo observado con altas dosis de *L. casei* pudo ser debido a una autorregulación de los mecanismos inmunes a nivel intestinal como consecuencia de un estímulo excesivo con disminución de la actividad inmune y la consecuente progresión tumoral.

Para estudiar la capacidad antitumoral del yogur, se determinó previamente el efecto de su administración en la mucosa intestinal (40, 41). El yogur fue administrado durante 10 días consecutivos antes de la inducción con el carcinógeno, y su administración continuó después de la inducción del tumor, es decir se

realizó una alimentación cíclica con yogur por períodos de 10 días seguidos de un descanso de una semana, esto se repitió durante 6 meses consecutivos (período en el que se desarrolla el tumor). En los animales control del tumor se observó una fuerte respuesta inmune inflamatoria, causada por el agente carcinogénico, con aumento significativo en el número de células $\text{IFN}\gamma^+$ de $\text{TNF}\alpha^+$, de linfocitos B y de linfocitos T CD8^+ . La alimentación con yogur inhibió el desarrollo del tumor disminuyendo la respuesta inmune inflamatoria con aumentos en el número de células IgA^+ , de linfocitos T CD4^+ , y aumento de la apoptosis celular con niveles elevados de IL-10, también se observó una disminución de radicales oxidantes (42, 43).

Los mecanismos inmunes usados por el yogur para disminuir la respuesta inflamatoria causada por el agente carcinogénico fueron diferentes a los observados con la droga antiinflamatoria indometacina. La diferencia principal fue que la indometacina no producía aumentos de la actividad infiltrativa de las células inmunes en el intestino grueso y se detectaban niveles bajos de citoquinas. La actividad antitumoral del yogur estaba mediada por su capacidad inmunomoduladora y por la disminución de las enzimas microbianas asociadas a carcinogénesis. Se determinó que la sola suplementación con yogur no podía inhibir el desarrollo del tumor en la etapa de la iniciación, no obstante la administración cíclica del yogur después de la inducción del tumor, inhibía la promoción y la progresión del tumor (40, 44).

A través de estos estudios se demostró que, la capacidad antitumoral del yogur estaría mediada por el aumento de células IgA^+ , linfocitos T CD4^+ no así de los linfocitos T CD8^+ , por niveles elevados de IL-10, es decir a través de una respuesta antiinflamatoria (45).

En el análisis de la capacidad antitumoral

mediada por yogur convencional, sin el agregado de otra bacteria probiótica seleccionada no existen antecedentes previos a nuestros estudios.

MECANISMOS IMPLICADOS EN EL IMMUNOSTIMULATION POR LAS BACTERIAS PROBIÓTICAS

Los estudios anteriores son la prueba científica del papel importante de las bacterias probióticas y/o de leches fermentadas que contienen estos microorganismos en la activación del sistema inmune de mucosas y sistémico. Estos resultados llevaron a analizar los mecanismos implicados en la activación inmune observada y a determinar cuáles son las células mas involucradas en dicha activación.

Existen muchos estudios tendientes a explicar la inmunostimulación de células inmunes intestinales por bacterias patógenas; pero hay pocos estudios que expliquen como el sistema inmune de mucosas responde frente a la entrada de microorganismos no patógenos. Uno de los principales desafíos es tratar de comprender cómo las bacterias comensales se comunican entre sí y con las células del huésped y cómo las células inmunes pueden discriminar cuando las señales microbianas provienen de un patógeno o no, llevando a la activación de las células inmunes intestinales o, a la no respuesta considerada como tolerancia oral.

En el microambiente intestinal, existe una compleja red de señales enviadas entre bacteria-bacteria y entre bacteria-célula epitelial. En este complejo ecosistema ¿cómo se genera una respuesta mucosa frente a microorganismos no patógenos? Y ¿cómo y cuáles son las células del sistema inmune que responden frente a la estimulación con bacterias probióticas?. Otras preguntas que surgen al respecto son si

la interacción de la bacteria probiótica se limita solo a la célula epitelial del intestino o si existe interacción directa entre la bacteria y las células inmunes del intestino. Si esto es así, y se estimula la célula epitelial y las inmunes asociadas, debería haber una respuesta por parte del sistema inmune mucoso, ¿cómo sería esa respuesta? y ¿Cuáles son las señales inducidas por el probiótico?.

Debido a que muchos alimentos que son promovidos actualmente en la industria contienen microorganismos probióticos, como éstos estimulan el SIM, es importante poder determinar si el consumo prolongado de los mismos podrían tener algún efecto adverso en el consumidor, ello es debido a que para poder tener un efecto, las bacterias probióticas necesitan adherirse al epitelio y permanecer durante un tiempo en el intestino, pero ¿cuál es el tiempo real de permanencia de las mismas en el intestino? ¿En este sentido, el uso de bacterias indígenas sería más recomendable que la administración de bacterias exógenas?

Con motivo de contestar los interrogantes planteados, se estudió la interacción de bacterias probióticas con las células epiteliales e inmunes, marcando a las bacterias con una sustancia fluorescente de manera de poder seguir la trayectoria de la misma luego de su administración, paralelamente se realizaron estudios con microscopia electrónica de transmisión y se detectó la bacteria probiótica administrada mediante técnicas de inmunomarcación usando oro coloidal. Los resultados mostraron que la bacteria probiótica entera puede interaccionar directamente con las células epiteliales intestinales a los 5 minutos de su administración a nivel de las microvellosidades de las mismas. Solo fragmentos bacterianos fueron encontrados en el interior de las células epiteliales y posteriormente de las células

inmunes (25, 46). También se observó que los macrófagos y las células dendríticas asociadas a intestino pueden fagocitar a la bacteria entera o a sus fragmentos. Esto puede ser debido a la internalización de las bacterias por las células M de placa de Peyer o de las vellosidades. En estos estudios, el grupo de trabajo fue el pionero en obtener la prueba científica sobre la vía de internalización de estas bacterias no patógenas.

Los receptores involucrados en la activación de células epiteliales e inmunes por la interacción con las bacterias probióticas son los receptores toll (TLR2) y el receptor (CD206) de macrófagos. Como consecuencia de la interacción bacteriana con los TLR-2 de la célula epitelial, estas células, producen citoquinas principalmente IL-6 a diferencia de los microorganismos patógenos que inducen producción de IL-8. Se observó que luego de que las bacterias probióticas interaccionan con el epitelio, algunas de ellas o sus fragmentos entran en contacto con las células fagocíticas, macrófagos o células dendríticas, por medio de los receptores de membrana TLR-2 y el receptor CD-206. Como consecuencia de dicha interacción se producen mediadores químicos que van a permitir la comunicación entre las células, como son las citoquinas, también se incrementaron el número de células IgA+, pero no hubo proliferación de la población de linfocitos T CD4+ y CD8+ (47).

Se determinó la importancia de la viabilidad de la bacteria probiótica para poder evocar una respuesta inmune a nivel intestinal, sin embargo no es una condición indispensable ya que algunos de los lactobacilos administrados (*L. bulgaricus*) produjeron una buena respuesta inmune a nivel de intestino delgado aunque no comparable con la obtenida con la cepa viva. También se demostró que el tiempo de

permanencia de las bacterias probióticas en el intestino es similar al de cualquier antígeno particulado (72 hs) (46), y que el consumo de los mismos durante tiempos prolongados no produce efectos adversos (48, 49). Estos resultados muestran que el consumo continuo o diario de probióticos o leches fermentadas que lo contienen mantendrían al sistema inmune en estado de vigilancia de manera de responder rápidamente frente a un estímulo o agresión antigénica (bacteria patógena, células tumorales).

Si bien el probiótico produce una estimulación de las células inmunes en el intestino, la respuesta inmune innata es la más involucrada, manteniendo la homeostasis intestinal. No se obtuvo respuesta con producción de anticuerpos para los antígenos de la bacteria probiótica administrada, con lo cual podemos concluir que no hubo presentación antigénica a nivel de placa de Peyer (50).

En relación a la importancia de la especificidad del huésped en la selección de bacterias probióticas para obtener una buena respuesta inmune intestinal, se demostró que ello no es necesario, luego de comparar bacterias probióticas con no-probióticas comensales y no-comensales (51). Las bacterias comensales están implicadas más en la regulación de la homeostasis intestinal, mientras que las bacterias probióticas están involucradas en la activación y regulación del sistema inmune (52).

Fuimos los primeros en establecer la hipótesis de que las bacterias probióticas estimulan la respuesta inmune innata. Actualmente hay trabajos de otros autores que han profundizado en las vías de señalización a nivel celular (53).

PERSPECTIVAS FUTURAS PARA VALIDAR EL EMPLEO DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS COMO ADYUVANTES ORALES

Es de importancia determinar las señales biológicas inducidas por los probióticos a las células de la inmunidad innata y adaptativa, a través del análisis de diversos factores transcripcionales (NFκB, NFAT, PKC) o enzimas (calcineurina) implicadas en la activación inmune, para establecer cuál de ellos es el más relacionado al estímulo inmune inducido por el probiótico en forma comparativa con patógenos intestinales. Este estudio será un paso importante para seleccionar el marcador inmune diferencial en la selección de cepas probióticas. También sería de gran valor evaluar porque no todos los lactobacilos son probióticos y determinar cuáles son los epitopes de la pared celular de estas bacterias que están involucrados en la activación inmune observada. ¿Puede la administración de un probiótico influenciar la maduración temprana de las células inmunes asociadas a la mucosa intestinal?, ¿por qué no inducen tolerancia oral?, ¿cuál es el mecanismo diferencial de los lactobacilos por los cuales algunos inducen tolerancia y otros activación inmune? Contestar estos interrogantes permitirá validar el empleo de los lactobacilos probióticos como adyuvantes orales del SIM.

REFERENCIAS

1. Fanaro, S., Chierici, R., Guerrini, P., Vigi, V. (2003) "Intestinal microflora in early infancy: composition and development." *Acta Pediatr Suppl.* 91, pags. 48-55.
2. Bezirtzoglou (1997) "The intestinal microflora during the first weeks of life." *Anaerobe* 3, pags. 173-177.
3. Moreau, M.C., Raibaud, P., and Muller, M.C. (1982) "Relationship between the development of the intestinal IgA immune system and the establishment of microbial flora in the digestive tract of young holoxenic mice". *Ann Immunol (Paris)* 133, 29-39.
4. Moreau, M.C., Ducluzeau, R., Guy-Grand, D., and Muller, M.C. (1978) "Increase in the population of duodenal immunoglobulin A plasmocytes in axenic mice associated with different living or dead bacterial strains of intestinal origin". *Infect Immun* 21, pags. 532-539.
5. Zhu, Y., Michelle Luo, T., Jobin, C., Young, H.A. (2011) "Gut microbiota and probiotics in colon tumorigenesis." *Cancer Lett.* 309, pags. 119-127.
6. Bailey MT, Dowd SE, Galley JD, Hufnagle AR, Allen RG, Lyte M. (2011) "Exposure to a social stressor alters the structure of the intestinal microbiota: implications for stressor-induced immunomodulation". *Brain Behav Immun.* 25, pags. 397-407.
7. Antunes LC, Finlay BB. (2011) "A comparative analysis of the effect of antibiotic treatment and enteric infection on intestinal homeostasis." *Gut Microbes.* 2, pags. 105-108.
8. Parker, R.B. (1974) "Probiotics, the other half of the antibiotic history. *Anim Nutr Helath.* 29, pags. 4-8.
9. FAO, W. (2001) "Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria." Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization Expert Consultation Report Available from www.fao.org/es/ESN/probio/probio.htm
10. Metchnikoff, E. (1908) "The prolongation of life." G.P.Putnam and Sons ed. New York.
11. de Vrese, M., **Schrezenmeir, J.** (2008) "Probiotics, prebiotics, and synbiotics." **Adv Biochem Eng Biotechnol.**; 111, pags. 1-66.
12. Aureli, P., Capurso, L., Castellazzi, AM., Clerici, M., Giovannini, M., Morelli, L., Poli, A., Pregliasco, F., Salvini, F., Zuccotti, GV. (2011) "Probiotics and health: an evidence-based review." *Pharmacol Res.* 63, pags. 366-376.
13. **Vereecke, L.; Beyaert, R.; van Loo, G.** (2011) "Enterocyte death and intestinal barrier maintenance in homeostasis and disease". **Trends Mol Med.** 17(10) pags. 584-93.
14. Jang, M., Kweon, M.N.; Iwatani, K.; Yamamoto, M.; Terahara, K.; Sasakawa, C.; Suzuki, T.; Nochi, T.; Yokota, Y.; Rennert, P.D.; Hiroi, T.; Tamagawa, H.; Iijima, H.; Kunisawa, J.; Yuki, Y. and Kiyono, H. (2004) "Intestinal villous M cells: an antigen entry site in the mucosal epithelium." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 pags. 6110-6611
15. *Fagarasan, S. and Honjo, T.* (2003) "Intestinal IgA synthesis: regulation of front-line body defences." *Nat. Rev. Immunol.* 3, pags. 63-72.
16. Macpherson, A.J.; McCoy, K.D.; Johansen, F.E. and Brandtzaeg, P. (2008) "The immune geography of IgA induction and function." *Mucosal Immunol.* 1, 11-22.
17. Perdígón, G., Nader de Macías, M.E, Alvarez, S., Oliverand, G. and de Ruiz Holgado, A.P. (1987) "Enhancement of immune response in mice fed with *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus acidophilus*" *Journal of Dairy Science.* 70, pags. 919-926.
18. Perdígón, G., Nader de Macías, M.E, Alvarez, S., Oliverand, G. and de Ruiz Holgado, A.P. (1988) "Systemic augmenta-

- tion of immune response in mice by feeding fermented milk with *L. casei* and *L. acidophilus*" Immunology. 63, pags. 17-24.
19. Vintiñi E., Alvarez S., Medina M., Medici M., V. de Budeguer M. and Perdígón G. (2000) "Gut mucosal immunostimulation by lactic acid bacteria." Biocell 24, pags. 223-232.
20. Perdígón, G.; Fuller, R. and Raya, R. (2001) "Lactic acid bacteria and their effect on the immune system." Current Issues Intest. Microbiol. 2, pags. 27-42
21. Vidal K, Benyacoub J, Moser M, Sanchez-Garcia J, Serrant P, Segura-Roggero I, Reuteler G, Blum S. (2008) "Effect of *Lactobacillus paracasei* NCC2461 on antigen-specific T-cell mediated immune responses in aged mice." Rejuvenation Res. 11, pags. 957-964.
22. Perdígón, G., Alvarez, S., Vintiñi, E., Medina, M. and Medici, M. (1999). "Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria." Journal of Dairy Science. 82, pags. 1108-1114.
23. Perdígón, G., Maldonado-Galdeano, C., Valdez, J.C. and Medici, M. (2002) "Interaction of lactic acid bacteria with the gut immune system." European Journal of Clinical Nutrition. 56, Supl. 4, pags. S21-S26
24. Perdígón, G., Alvarez, S., Rachid, M., Agüero, G. and Gobbato, N. (1995) "Immune system stimulation by probiotics." Journal of Dairy Science. 78, pags. 1597-1606
25. Perdígón, G., Maldonado-Galdeano, C., de Moreno de LeBlanc, A., Vinderola, C.G., Medici, M. and Bibas Bonet, M.E. (2004) "Immunomodulation of mucosal immune response by probiotics." Current Trends in Immunology. 6, pags. 69-85.
26. Maassen, C.B., van Holten-Neelen, C., Balk, F., den Bak- Glashouwer, M.J., Leer, R.J., Laman, J.D., Boersma, W.J., and Claassen, E. (2000) Strain-dependent induction of cytokine profiles in the gut by orally administered *Lactobacillus* strains. Vaccine 18 pags. 2613-2623.
27. Cross, M.L., Mortensen, R.R., Kudsk, J., Gill, H.S. (2002) "Dietary intake of *Lactobacillus rhamnosus* HNOO1 enhances production of both Th1 and Th2 cytokines in antigen-primed mice." Med Microbiol Immunol. 191, pags. 49-53.
28. de Moreno de LeBlanc, A., Maldonado Galdeano, C., Chaves, S. and Perdígón G. (2005). "Oral administration of *L. casei* increases immunity in bronchus and mammary glands." European Journal of inflammation. 3, pags. 25-30.
29. Perdígón, G., Alvarez, S., Medina, M., Vintiñi, E. and Roux, E. (1999). "Influence of the oral administration of lactic acid bacteria on IgA producing cells associated to bronchus." International Journal of Immunotherapy and Pharmacology. 12, pags. 97-102
30. Roux E.; Slobodianik, N.; Gauffin Cano, P. and Perdígón, G. (2003) "Mucosal Immune System and Malnutrition" edited by Fuller R. and Perdigon G., Blackwell publishing. UK. Chapter 7, pags. 155-168
31. Perdígón G. y Gauffin Cano, Paola. (2003). "El yogurt como Agente Paliativo en Situaciones de Malnutrición". Malnutrición en el mundo. Como encontrar soluciones en el siglo XXI. Capítulo XIII. Pp 177-182. Editado por: Ascensión Marcos. Editec@red, Madrid.
32. Liu, G., Griffiths, M. W., Wu, P., Wang, H., Zhang, X., and Li, P. (2011) "Enterococcus faecium LM-2, a multi-bacteriocinogenic strain naturally occurring in "Byaslag", a traditional cheese of Inner Mongolia in China." Food Control, 22, pags. 283-289.
33. Gobbato, N., Maldonado Galdeano, C., and Perdígón, G. (2008). "Study of some of the mechanisms involved in the preven-

- tion against *Salmonella* enteritidis serovar Typhimurium infection by lactic acid bacteria". Food and Agricultural Immunology. 19, pags. 11-23
34. de Moreno de LeBlanc, A.; Castillo N.A.; Perdigon, G. (2010) "Anti-infective mechanisms induced by a probiotic *Lactobacillus* strain against *Salmonella* enterica serovar Typhimurium infection." International Journal of Food Microbiology. 138, pags. 223-231
35. de Moreno de LeBlanc, A.; Maldonado Galdeano, C.; Dogi, C.A.; Carmuega, E.; Weill, R.; Perdigon, G. (2010). "Adjuvant effect of a probiotic fermented milk in the protection against *Salmonella* enteritidis serovar Typhimurium infection: mechanisms involved." International Journal of Immunopathology and Pharmacology. 23, pags. 1235-1244
36. Canani, R. B., Cirillo, P., Terrin, G., Cesarano, L., Spagnuolo, M. I., De Vincenzo, A., et al. (2007) "Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: Randomised clinical trial of five different preparations." BMJ, 335, pags. 340-347.
37. Valdez J., Rachid M., Gobbato N. and Perdígón G. (2001) "Lactic acid bacteria induce apoptosis inhibition in *Salmonella* Typhimurium infected macrophages." Food and Agricultural Immunology. 13, pags. 189-197.
38. Deshpande, G., Rao, S., Patole, S. (2011) "Progress in the field of probiotics: year 2011." Curr Opin Gastroenterol. 27, pags.13-18.
39. Perdígón, G., Medici, M., de Jorrat, M., de Budeguer, M and de Ruiz Holgado, A.P. (1993) "Immunomodulation effect of lactic acid bacteria on mucosal and tumour immunity". Int. Journal of Immunotherapy. IX, pags. 29-52.
40. Rachid, M., Gobbato, N., Valdez, J.C., Vitalone, H. and Perdígón, G. (2002) "Effect of yogurt in the inhibition of an intestinal carcinoma by increasing in the cellular apoptosis." International Journal of Immunopathology and Pharmacology. 15, pags. 209-216.
41. Guarner, F., Perdígón, G., Corthier, G., Salminen, S., Koletzko, B. and Morelli, L. (2005) "Should yoghurt cultures be considered probiotics?" British Journal of Nutrition 93, pags. 783-786
42. Valdez, J., Rachid, M., Bru, E and Perdígón, G. (1997) "Cytotoxic activity of peritoneal macrophages of mice fed with yogurt in an intestinal tumour process." Food Agricultural Immunology. 9, pags. 299-308.
43. Perdígón, G., Valdez, J. y Rachid, M. (1998) "Antitumor activity of yogurt. Study of the possible involved immune mechanisms". Journal Of Dairy Research. 65, pags. 129-138.
44. de Moreno de LeBlanc, A. and Perdígón, G. (2004) "Yogurt feeding inhibits promotion and progression of experimental colorectal cancer." Medical Science Monitor 10, pags. 96-104.
45. de Moreno de LeBlanc, A., Valdez, J.C. and Perdígón, G. (2004). "Regulatory effects of yoghurt on intestinal inflammatory immune response." European journal of inflammation. 2, pags. 21-31.
46. Galdeano, C.M. and Perdígón, G. (2004). "Role of viability of probiotic strains in their persistence in the gut and in mucosal immune stimulation." Journal of Applied Microbiology. 97, pags. 673-681
47. Maldonado Galdeano, C. and Perdígón, G. (2006) "The probiotic bacteria *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through the innate immunity." Clinical and Vaccine Immunology. 13, pags. 219-226.
48. de Moreno de Leblanc, A., Chaves, S., Carmuega, E., Weill, R., Antóine, J., Perdígón, G. (2008) "Effect of long-term continuous consumption of fermented milk containing probiotic bacteria on mu-

- cosal immunity and the activity of peritoneal macrophages." *Immunobiology*. 213, pags. 97-108.
49. Bibas Bonet, M.E., Chaves, A.S., Mesón, O. and Perdigón, G. (2006) "Immunomodulatory and anti-inflammatory activity induced by oral administration of a probiotic strain of *Lactobacillus casei*." *Europ J of Inflamm*. 4, pags. 31-34.
 50. Galdeano, C. M., de Moreno de LeBlanc, A., Vinderola, G., Bonet, M. E., and Perdigón, G. (2007) Proposed model: Mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria. *Clinical and Vaccine Immunology*, 14, pags. 485-492
 51. Dogi, C. A. and Perdigón, G. (2006) "Importance of the host specificity in the selection of probiotic bacteria." *Journal of Dairy Research*. 73, pags. 357-366.
 52. Dogi, C.A; Maldonado Galdeano, C and Perdigón, Gabriela. (2008) "Gut immune stimulation by non pathogenic Gram(+) and Gram(-) bacteria. Comparison with a probiotic strain." *Cytokine*. 41, pags. 223-231.
 53. Ng, S.C., Hart, A.L., Kamm, M.A., Stagg, A.J., Knight, S.C. (2009) "Mechanisms of Action of Probiotics: Recent Advances". *Inflamm Bowel Dis*. 15, pags. 300-310.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó gracias al soporte económico de diferentes subsidios CONICET-PIP, CIUNT (Universidad Nacional de Tucumán) y FONCYT.