

PROBIÓTICOS

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han producido numerosos avances en el campo de la nutrición, debido fundamentalmente a la implicación de la nutrición en la ecología microbiana, la genómica y la inmunología. Existe una estrecha relación entre la dieta y el estado de salud y son varios los efectos beneficiosos derivados de las interacciones entre el huésped y la flora intestinal.

En este contexto han surgido los llamados alimentos funcionales, que son aquellos que, además de aportar los nutrientes recomendados, ejercen efectos beneficiosos sobre una o más funciones del organismo, fomentando la salud y reduciendo el riesgo de enfermedad.

Los probióticos constituyen un subgrupo importante dentro de los alimentos funcionales con un gran atractivo comercial, por lo que es importante definir con claridad cuáles son los efectos beneficiosos que pueden ejercer sobre la salud. En esto se va a basar esta revisión, en detallar las aplicaciones clínicas de los probióticos.

La historia de los probióticos se remonta a tiempos muy antiguos, cuando ya se tenía conciencia de cómo, mientras algunos alimentos tenían efectos perjudiciales sobre la salud otros eran potencialmente beneficiosos. Pero fue a principios del siglo XX, cuando el científico ruso Eli Metchnikoff apreció en regiones de Bulgaria, donde el consumo de leches fermentadas era habitual, que aumentaba la esperanza de vida. Este hecho marcó un hito en la historia de la microbiología y, por ello, Eli Metchnikoff recibió el premio Nobel en 1907.

En 1965, Lilly y Stillwell utilizaron por primera vez el término **probiótico** para nombrar a los productos de la fermentación gástrica. Esta palabra se deriva de dos vocablos: del latín *pro* que significa por o en favor de, y del griego *bios* que quiere decir vida¹.

Esta definición fue modificada y se redefinió el término probióticos como microorganismos y compuestos que participan en el balance y desarrollo microbiano intestinal. En la actualidad la definición de probióticos ha sido dada por Fuller en 1989 como "aquellos microorganismos vivos, principalmente bacterias y levaduras, que son agregados como suple-

mento en la dieta y que afectan beneficiosamente al desarrollo de la flora microbiana en el intestino"².

Los componentes de la flora intestinal varían de una persona adulta a otra, ya que dependen del medio en el que habita el ser humano, de su alimentación y de la genética de cada individuo. El ácido gástrico y el flujo peristáltico normal del intestino delgado limitan la población bacteriana del tracto gastrointestinal alto. El intestino delgado es una zona de transición entre el estómago y el colon, donde se produce una transición gradual de la flora gram-positiva a gram-negativa. Esta flora varía según el segmento intestinal y, por sí misma, no produce alteraciones, constituyendo un verdadero cultivo autorregulable.

Hay dos tipos de flora intestinal: la flora residente o autóctona y la pasajera o transitoria. La flora residente se adhiere a las células epiteliales de la mucosa y los microorganismos se multiplican con rapidez, siendo estables e inoocuos. La flora pasajera no se fija al epitelio ni se establece en el intestino y está formada por los microorganismos no patógenos procedentes de la porción superior del tubo digestivo, los alimentos y el medio ambiente.

La flora intestinal tiene distintas funciones entre las que se encuentran³:

- ✓ Participan en la síntesis de vitaminas.
- ✓ Producen ácidos grasos volátiles como el ácido butírico.
- ✓ Modifican cualitativamente al intestino.
- ✓ Producen gases.
- ✓ Sintetizan poliaminas y aminos activas.
- ✓ Actúan en el metabolismo de los xenobióticos.

La microflora intestinal tiende a sufrir alteraciones asociadas al envejecimiento. Se observa una disminución de la población de microorganismos anaerobios y de bifidobacterias, junto con un incremento de la enterobacterias³.

Como productos de la fermentación de carbohidratos, ciertas bacterias colónicas producen ácidos grasos de cadena corta y ácido láctico, que disminuyen el pH del medio creando un microambiente donde las bacterias potencialmente patógenas no pueden crecer. Además, producen bacteriocinas, que actúan como antibióticos e inhiben a las bacterias patógenas⁴. Los hábitos alimentarios, por tanto, pueden afectar a la microflora intestinal. Además, el exceso de trabajo y el estrés

AUTORAS

Pilar Zafrilla Rentero^{1,2}
Begoña Cerdá Martínez-Pujalte^{1,2}

1. Doctora en Farmacia.
2. Departamento de Tecnología Alimentaria y Nutrición. Universidad Católica San Antonio de Murcia.

RESUMEN

Los llamados alimentos funcionales son aquellos que, además de aportar los nutrientes recomendados, ejercen efectos beneficiosos sobre una o más funciones del organismo, fomentando la salud y reduciendo el riesgo de enfermedad. Los probióticos constituyen un subgrupo importante dentro de los alimentos funcionales con un gran atractivo comercial, por lo que es importante definir con claridad cuáles son los efectos beneficiosos que pueden ejercer sobre la salud. Ciertas bacterias colónicas producen ácidos grasos de cadena corta y ácido láctico como productos de la fermentación de carbohidratos, que disminuyen el pH del medio creando un microambiente donde las bacterias potencialmente patógenas no pueden crecer. Además, producen bacteriocinas, que actúan como antibióticos e inhiben el crecimiento de bacterias patógenas. Actualmente, los probióticos han demostrado ser útiles y beneficiosos en el tratamiento de diarrea aguda infecciosa en niños y adultos, en la prevención de la diarrea asociada a antibióticos, en enfermedades inflamatorias intestinales, en la mejora de los síntomas debidos a la mala digestión de la lactosa y de algunos síntomas del síndrome del colon irritable y en la prevención de la enterocolitis necrotizante en recién nacidos pre-término. También hay otras propiedades asociadas a este tipo de alimentos que necesitan más estudios que avalen su eficacia.

Por tanto, los probióticos constituyen una importante fuente de salud, al garantizar un equilibrio a nivel de nuestra microflora endógena, fortaleciéndonos el sistema inmune y mejorando las funciones anatómicas del organismo. Además, tenemos que tener en cuenta que la investigación probiótica en la intersección de la gastroenterología con la inmunología y la microbiología es muy dinámica en los últimos años, tanto en la investigación básica como clínica y que el conocimiento de los mecanismos moleculares que conducen a la eficacia de los probióticos, estimulará la creación de nuevos alimentos con propiedades beneficiosas para la salud.

Continúa ➔

PALABRAS CLAVE

PALABRAS CLAVE EN ESPAÑOL

Probióticos, microbiota intestinal, salud, diarrea, alergias, cáncer, patologías gastrointestinales.

PALABRAS CLAVE EN INGLÉS

Probiotics, intestinal microbiota, health, diarrhea, allergies, cancer, gastrointestinal pathologies.

también pueden provocar modificaciones de la microflora intestinal³.

En el colon la concentración y variedad de la flora bacteriana cambia considerablemente. Se pueden encontrar concentraciones tan altas como 10¹² UFC/ml incluyendo principalmente anaerobios tales como: *Bacteroides*, *Porphyromonas*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Clostridium*. Otras bacterias anaerobias facultativas (aerobias) son *Enterococcus*, *Escherichia coli*, otras *Enterobacteriaceae* y bacterias del género *Staphylococcus*⁵ (tabla 1).

El delicado balance entre el huésped y el medio ambiente es fundamental para mantener la homeostasis. El epitelio intestinal se expone diariamente a los antígenos de la microflora bacteriana induciendo un estado de inflamación controlada. Esta señal fisiológica genera la inducción de tolerancia del sistema inmune y la secreción de inmunoglobulinas y es fundamental para mantener la integridad y la función de la membrana intestinal. Enterocitos, células epiteliales especializadas (células M), células presentadoras de antígenos (células dendríticas) y células de Paneth juegan un importante papel en la relación entre el huésped y medio ambiente luminal⁵.

Generalmente, los microorganismos utilizados como probióticos son bacterias comensales que forman colonias en el tracto gastrointestinal, vaginal y en la boca. Entre ellas están los *Lactobacillus*, ciertos cocos gram+, las bifidobacterias, *Bacillus cereus* y *Escherichia coli*. Además, algunas levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* y *boulardii* (tabla 2).

Ciertas bacterias lácticas protegen al

intestino frente a los patógenos de diferentes maneras:

- ✓ Compitiendo por el espacio físico y por los nutrientes.
- ✓ Produciendo sustancias antibióticas activas frente a estos patógenos.
- ✓ Estimulando el sistema inmune del intestino.
- ✓ Contribuyendo a la acidificación del contenido del colon, lo cual es desfavorable para el crecimiento de patógenos.
- ✓ Inactivación de ciertas toxinas liberados por patógenos.

En líneas generales se considera que las bifidobacterias y los lactobacilos son los responsables de la resistencia a la colonización por parte de los microorganismos patógenos. La cepa Lp 299v pertenece al género *Lactobacillus*. La especie *Lactobacillus plantarum* se encuentra en forma natural en la mucosa intestinal y oral de los seres humanos sanos, tiene capacidad de colonizar la mucosa de los seres humanos y posee propiedades de adhesión específicas⁶.

Características de las bacterias probióticas

Entre las características de las bacterias probióticas hay que considerar lo siguiente:

- ✓ No deben causar infecciones de órganos o sistemas: seguridad biológica.
- ✓ Deben tener capacidad de ser toleradas por el sistema inmunitario del organismo huésped y, por lo tanto, deben ser preferiblemente de procedencia intestinal.
- ✓ Capacidad de resistir la acción de los ácidos gástricos y de las sales biliares para que puedan llegar vivas en elevadas cantidades al intestino.
- ✓ Capacidad de adherirse a la superficie de la mucosa intestinal y de colonizar el segmento gastrointestinal.
- ✓ Tener sinergia con la microflora endógena normal.
- ✓ Ejercer un efecto barrera, es decir, tener capacidad de producir sustancias que ejerzan una acción trófica sobre el epitelio de la mucosa intestinal.
- ✓ Capacidad de potenciar las defensas inmunitarias del huésped⁶.

Los alimentos probióticos, por tanto, deben cumplir dos requisitos:

1. Sinergismo entre los cultivos de microorganismos y los iniciadores de la fermentación (fermentos, cultivos iniciadores), para obtener un producto fermentado con óptimas características sensoriales.
2. Los microorganismos probióticos deben permanecer viables y activos en el alimento y durante el tránsito gastrointestinal, para garantizar su potencial efecto benéfi-

co en el huésped. Son importantes el pH derivado del proceso de fermentación del oxígeno disuelto, el antagonismo entre especies, la composición química del medio de cultivo, la concentración de azúcares, las prácticas de inoculación del cultivo probiótico, la temperatura y duración de la fermentación y las condiciones de almacenamiento del producto⁷.

UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS PROBIÓTICOS EN LA SALUD

La principal utilidad de los probióticos es el tratamiento y la prevención de infecciones intestinales, aunque también han demostrado tener un papel importante en otras enfermedades digestivas no infecciosas así como en afecciones de otros órganos (alergias, eczemas, vaginitis)⁸⁻¹⁰. Actualmente, los probióticos han demostrado ser útiles y beneficiosos en:

- ✓ Tratamiento de diarrea aguda infecciosa en niños y adultos.
 - ✓ Prevención de la diarrea asociada a antibióticos en niños y adultos.
 - ✓ Algunas enfermedades inflamatorias intestinales (colitis ulcerosa, reservoritis)
 - ✓ Mejora de los síntomas debidos a la mala digestión de la lactosa.
 - ✓ Mejora de algunos síntomas del síndrome del colon irritable.
 - ✓ Prevención de la enterocolitis necrotizante en recién nacidos pre-término.
- Otras situaciones en las que los probióticos podrían ser útiles en un futuro, pero donde aún se necesitan más estudios que avalen su eficacia, son:
- ✓ Disminución de los síntomas de asma y otras enfermedades de base alérgica.
 - ✓ Prevención de infecciones urinarias y del tracto genital, sobre todo en mujeres
 - ✓ Prevención y disminución de la gravedad de las infecciones en recién nacidos prematuros.
 - ✓ Disminución de las complicaciones (sobre todo infecciosas) en pacientes ingresados en las unidades de cuidados intensivos.
 - ✓ Prevención de las infecciones en pacientes con cirrosis hepática.
 - ✓ Mejorar los síntomas en pacientes con artritis reumatoide y otras enfermedades reumatológicas de tipo inflamatorio.
 - ✓ Prevención de la aparición de tumores.
 - ✓ Disminución de los niveles de colesterol⁸⁻¹⁰.

Efecto de los probióticos en el sistema inmune

Las infecciones persistentes en el tracto intestinal causan pérdidas de inmunoglobulinas, linfocitos y otras células y moléculas efectoras, así como nutrientes que producen en el organismo una inmuno-

TABLA 1 FLORA BACTERIANA COLÓNICA

ANAEROBIAS	ANAEROBIAS FACULTATIVOS (AEROBIAS)
<i>Bacteroides</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Clostridium</i> <i>Eubacterium</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Peptococcus</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Ruminococcus</i>	<i>Enterococcus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacteriaceae</i> (otros) <i>Staphylococcus</i>

TABLA 2 MICROORGANISMOS UTILIZADOS COMO AGENTES PROBIÓTICOS

ESPECIES DE LACTOBACILLUS	ESPECIES DE BIFIDOBACTERIUM	OTRAS ESPECIES
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>B. Bifidum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>L. casei (rhamnosus)</i>	<i>B. breve</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Saccharomyces boulardi</i>
<i>L. lactis</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>L. reuteri</i>		

deficiencia secundaria, desarrollando un ciclo que causa el deterioro severo del individuo. Las inmunodeficiencias secundarias se asocian frecuentemente a enfermedades diarreicas que desestabilizan de forma temporal o permanente algunos componentes de la inmunidad, incrementando la susceptibilidad a las infecciones. Las bacterias tienen una acción estimulante sobre el sistema inmunitario del huésped, ya que actúan tanto sobre las células implicadas en la inmunidad natural, como en la inmunidad específica y también sobre los macrófagos. Además los microorganismos probióticos favorecen la reproducción de anticuerpos, especialmente de las IgA secretoras en la luz intestinal. Las IgA pueden inhibir la adhesión de las bacterias patógenas a la superficie de las mucosas, causando la aglutinación de las bacterias, fijándose en las adhesinas, e interfiriendo con las interacciones adhesinas-receptores celulares. La superficie de la mucosa intestinal tiene mecanismos de defensa que discriminan adecuadamente entre la flora comensal, la simbiótica y los patógenos exógenos¹¹. Las bacterias lácticas podrían prevenir las infecciones intestinales gracias a su acción sobre el sistema inmunitario actuando como inmunomoduladoras^{6,12}. Mediante la inmunomodulación protegen al huésped de las infecciones, induciendo un aumento de la producción de inmunoglobulinas, aumento de la activación de las células mononucleares y de los linfocitos^{13,14}. El efecto protector que ejercen las LAB (bacterias ácido lácticas) frente a patógenos intracelulares podría estar asociado con una activación del sistema reticuloendotelial¹⁵. Arunachalan et al¹⁶ demostraron un aumento de la capacidad fagocítica de las células inmunitarias y un incremento en la producción de citoquinas tanto *in vivo* como *in vitro*, fundamentalmente debido a las bacterias del género *Lactobacillus spp.* Los probióticos disminuyen las enfermedades asociadas a la inmunodepresión y permiten regular el efecto inmunoinflamatorio en las respuestas de hipersensibilidad¹⁷.

Varios estudios han demostrado que el mecanismo de fagocitosis se activa e incrementa en los tratamientos con bebidas lácteas enriquecidas con *Lactobacillus* y que esto va acompañado de la producción de varias citoquinas como el Interferon g, Interleuquina 12 y la Interleuquina 10^{18,19}.

Alergias

La prevalencia de enfermedades atópicas, eczema atópico, rinoconjuntivitis alérgica y asma ha aumentado en los últimos años. Estas condiciones están asociadas con las citoquinas sintetizadas por los linfocitos TCD4+ hacia la vía Th2 (IL-4, IL-5, y IL-13) las cuales promueven la secreción de inmunoglobulina E (IgE) y la eosinofilia²⁰. Los probióticos pueden ser efectivos en la respuesta inmune para prevenir las reacciones alérgicas en los niños²¹. En un ensayo controlado con placebo, aleatorizado doble-ciego, mujeres embarazadas que recibieron *L. rhamnosus* GG cuatro semanas antes del parto tuvieron una disminución significativa de enfermedad atópica en el recién nacido. Estudios clínicos con *L. rhamnosus* GG y *B. lactis* mostraron ser útiles en neonatos alérgicos a la leche de vaca⁴. Este efecto es el resultado de la habilidad del organismo para incrementar la permeabilidad intestinal, estimular la secreción de IgA, producir citoquinas reguladoras como la IL-10 y factor de crecimiento transformador beta (TGF-β)^{22,23}. La actividad de estas citoquinas se asocia con la supresión de las células Th2 y secreción reducida de citoquinas proinflamatorias, con un control de la respuesta IgE y reducción de la inflamación alérgica en el intestino²⁴.

Probióticos y patología gastrointestinal

• Síndrome del intestino irritable (SII)

El síndrome del intestino irritable tiene un curso benigno pero recurrente, caracterizado por dolor, distensión abdominal asociado a otras manifestaciones como cefalea, alteraciones en el hábito intestinal, fatiga y fibromialgias, con ausencia de alteraciones metabólicas o estructurales. Esta enfermedad puede afectar a la

calidad de vida de los pacientes y los probióticos podrían mejorar la sintomatología del SII²⁵.

Diversos estudios han demostrado que los probióticos son eficaces en comparación con un placebo, en mejorar los principales síntomas de personas con síndrome del intestino irritable. En los estudios publicados han observado una reducción de la distensión abdominal y de la flatulencia como resultado del tratamiento con probióticos y algunas cepas parecen mejorar el dolor. En pacientes que padecían el síndrome del colon irritable el tratamiento con Lp 299v demostró una mejora sintomática, ya que disminuyó el malestar abdominal, el meteorismo y la producción de gas y la mejora de la función gastrointestinal en general²⁵. Noabeck et al²⁶ realizaron un estudio doble ciego y controlado con 52 pacientes con síndrome del colon irritable, donde evaluaron Lp 299v frente a un placebo. Observaron una reducción rápida y significativa de la flatulencia en el grupo tratado con Lp 299v. El dolor abdominal disminuyó en ambos grupos, aunque en el grupo tratado con Lp 299v la disminución del dolor fue de un modo más pronunciado y rápido. Además, en este grupo la función intestinal general mejoró de forma significativa²⁶.

• Tratamiento de la diarrea aguda

La gastroenteritis aguda infecciosa es la causa más frecuente de diarrea aguda, constituyendo un problema importante en niños por su frecuencia y morbilidad asociada. Puede ser de etiología vírica o bacteriana, aunque en edad pediátrica la causa más habitual es la infección por rotavirus y su tratamiento se limita, hasta ahora, a la rehidratación. Se ha observado que la administración de *Lactobacillus rhamnosus cepa GG* es útil en el tratamiento de la gastroenteritis, reduciendo la duración de la diarrea de forma significativa y el efecto de este lactobacilo es mayor cuando el agente etiológico del cuadro es el rotavirus.

Johanson et al²⁷ en un estudio llevado a cabo con 13 voluntarios sanos que recibieron un preparado de 19 cepas de lactobacilos, demostraron que la cepa Lp 299v ejerció un efecto antibacteriano frente a los microorganismos potencialmente patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolytica*, etc. Además, las heces del grupo de individuos que recibió Lp 299v presentaron un incremento de lactobacilos y bifidobacterias, dato

que indica un aumento de la fermentación en el colon y por tanto un aumento de la producción de ácidos grasos de cadena corta, un incremento de volumen de las deposiciones y una reducción significativa de la producción de gas.

En gastroenteritis por rotavirus se ha demostrado que la administración de probióticos disminuye y acorta la eliminación del virus y por tanto la transmisión de la enfermedad, lo que podría suponer una importante repercusión sobre la epidemiología de esta enfermedad.

Para la prevención de la diarrea en el adulto y en pediatría sólo hay evidencia de que *Lactobacillus GG*, *Lactobacillus casei DN-114001* y *Saccharomyces boulardii* son eficaces en alguna situación específica²⁸.

• **Diarrea asociada al consumo de antibióticos**

La diarrea asociada al uso de antibióticos (DAA) aparece en aproximadamente un 20% de los individuos que consumen estos fármacos. Se cree que la DAA se debe a la alteración de la microbiota intestinal por acción del fármaco, de forma que se favorece la proliferación de patógenos y se reduce la capacidad de fermentación del colon.

Diversos estudios han demostrado que el uso de diferentes probióticos (*Saccharomyces boulardii* o *Lactobacillus rhamnosus*) asociados a la administración de antibióticos reduce la incidencia o la duración de la DAA secundaria a eritromicina, clindamicina o ampicilina, entre otros. Recientemente, se ha demostrado la eficacia del *Lactobacillus casei DN-114 001* en adultos hospitalizados para la prevención de la diarrea asociada a los antibióticos y diarrea por *Clostridium difficile*²⁹.

• **Diarrea del viajero**

Alrededor de la mitad de los individuos que viajan a áreas de alto riesgo presentan diarrea aguda. Los agentes etiológicos son diversos, pero los más habituales son *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Shigella spp* y *Campylobacter spp*. Aunque suele autolimitarse en pocos días, se asocia a una elevada morbilidad. La eficacia demostrada por la administración de probióticos en la prevención de este cuadro ha sido muy heterogénea en los diferentes estudios controlados realizados hasta ahora, por lo que no se puede recomendar su uso con los datos disponibles.

• **Diarrea inducida por radioterapia**

Liu et al³⁰, demostraron que el tratamiento con *L. plantarum 299 v* aumenta la concentración de colágeno y disminuye la actividad de mieloperoxidasa compa-

rada con el grupo sin tratamiento. Además, una preparación con 8 cepas diferentes de probióticos (VSL # 3) puede prevenir la diarrea inducida por radiación³¹.

• **Erradicación de la bacteria *Helicobacter pylori***

Debido a la necesidad de alternativas complementarias al tratamiento antibiótico, se ha evaluado el papel de los probióticos en el tratamiento de erradicación de *Helicobacter pylori*.

Mukai et al³², han observado que *Lactobacillus reiteri* podría prevenir la infección por *H. pylori* en los estadios iniciales de colonización, al inhibir la adhesión de la bacteria con los receptores glicolípidos de las células epiteliales gástricas.

Varios estudios han confirmado que la ingestión de probióticos puede modular la colonización de *Helicobacter pylori*³³.

• **Enfermedad inflamatoria intestinal**

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) cursa en diferentes patologías (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y colitis indeterminada), todas caracterizadas por una respuesta inflamatoria exagerada y crónica de la pared intestinal, en sujetos genéticamente susceptibles, en respuesta a la propia flora intestinal comensal.

Además, se han descrito diferentes alteraciones en la microbiota intestinal de los pacientes con EII, como la disbiosis (pérdida del balance entre especies bacterianas beneficiosas y nocivas), el predominio de *Clostridium*, o cambios en la proporción de bacterias adheridas al epitelio intestinal. Por estas razones, la administración de probióticos puede ser una estrategia terapéutica atractiva.

Hay que distinguir tres situaciones diferentes en la utilización de probióticos en la EII:

a) **En la reservoritis** (inflamación de la mucosa del reservorio íleo-anal que se construye en pacientes con colitis ulcerosa sometidos a proctocolectomía por falta de respuesta al tratamiento médico intensivo, similar a la propia colitis ulcerosa), es donde se dispone de más evidencias sobre el eficacia de los probióticos. Un cóctel de diferentes lactobacilos, bifidobacterias y estreptococos (VSL # 3) ha mostrado ser eficaz tanto en su prevención primaria como secundaria. Por tanto, se puede recomendar el uso de probióticos en pacientes con reservoritis crónica o recurrente y como prevención primaria³⁴. El probiótico VSL # 3 se asocia a una normalización de la función de la barrera intestinal, en conjunto con una reduc-

ción de la actividad de la matriz metaloproteinasas y en la secreción de FNT α e IFN γ . En un modelo de colitis experimental, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* fueron efectivos en disminuir el grado de inflamación a nivel fecal y colónico, y los niveles de las citoquinas proinflamatorias FNT α , IFN γ e IL-12, mientras los niveles de las citoquinas antiinflamatorias (factor crecimiento tumoral) se mantenían sin variación³⁵.

Estudios experimentales han demostrado las diferencias entre probióticos, aunque *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* mejoraron de forma significativa el índice de colitis y translocación bacteriana, *L. plantarum* DSM 9853, *Bifidobacterium* sp 3B1, y *Bifidobacterium infantis* 15.158 fueron más efectivos³⁶.

b) **Colitis ulcerosa**. En un estudio controlado y aleatorizado, *Escherichia coli nissle* 1917 fue tan efectiva como mesalazina en inducir y mantener la remisión de la colitis ulcerosa. No hay estudios adecuados que permitan asegurar que otros preparados probióticos sean eficaces en la colitis ulcerosa. Sin embargo, este efecto positivo no puede ser completamente atribuido al uso de probióticos, ya que todos los pacientes estaban recibiendo un tratamiento estándar con esteroides³⁷.

VSL # 3 reduce el grado de inflamación activa en pacientes con enfermedad leve-moderada y previene los episodios de recaída. Se ha sugerido que este probiótico puede ser efectivo en pacientes con pouchitis ya que en un estudio aleatorizado, controlado y doble ciego, VSL # 3 disminuyó significativamente las recaídas de pouchitis posterior a la reducción de la remisión con antibióticos. Otros probióticos también han mostrado efectividad en la disminución del índice de actividad de la pouchitis³⁸.

c) **Enfermedad de Crohn**. Los resultados obtenidos en pacientes con enfermedad de Crohn son poco claros, dado el número pequeño de casos incluidos, diferencias en el grado de actividad y en el área comprometida³⁸.

Como la exposición de la mucosa del íleon terminal al contenido intestinal activa rápidamente la respuesta inmune, con reclutamiento de células inflamatorias y diferenciación de células mononucleares hacia macrófagos activos y células epiteloides, diversos estudios han sugerido que los probióticos podrían tener un efecto positivo en la recurrencia postoperatoria en pacientes con enfermedad de Crohn³⁹. Sin embargo, Pranter

TABLA 3 EFECTOS GENERALES DE LOS PROBIÓTICOS SOBRE EL SISTEMA DIGESTIVO

GÉNEROS-ESPECIES	EFFECTOS
<i>Lactobacillus-casei</i> <i>Lactobacillus-acidophilus</i>	Regula los niveles de triglicéridos y colesterol sanguíneo
<i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium animalis</i>	Sintetizan vitaminas: B6, B12 y ácido fólico
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Potencian la acción de microorganismos intestinales beneficiosos
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Absorción de lactosa y estimulan la actividad biológica de péptidos, aminoácidos libres, vitaminas y enzimas

et al⁴⁰ han observado que la administración de *Lactobacillus* GC durante un año no tiene ningún efecto significativo sobre la recurrencia clínica comparado con un grupo control.

Una reciente revisión sistemática Cochrane ha concluido que no existe evidencia que sugiera que los probióticos son beneficiosos para el mantenimiento de la remisión en la enfermedad de Crohn²⁹. En la tabla 3 podemos ver los efectos de los probióticos sobre el sistema digestivo en general.

Probióticos contra el estrés

El estrés es un problema cotidiano en los seres humanos. La respuesta fisiológica al estrés nos permite adaptarnos a las condiciones cambiantes de nuestro entorno y poder emitir una respuesta adecuada.

En términos generales, **estrés** significa presión o tensión nerviosa. En las personas, el estrés puede ser físico (una enfermedad), emocional (el dolor por la muerte de un ser querido), o psicológico (el miedo).

La respuesta al estrés está controlada por el sistema nervioso central y los tres sistemas encargados de mantener la homeostasis: nervioso autónomo, endocrino e inmune⁴¹. La capacidad para manejar el estrés varía de unos individuos a otros. La forma en que se percibe una situación y la salud física general son los dos factores principales que van a determinar cómo se va a reaccionar ante un acontecimiento estresante o ante al estrés cotidiano.

La reacción más conocida al estrés agudo es la de "luchar o huir" que surge cuando se percibe una amenaza. En ese caso, la reacción al estrés hace que el cuerpo envíe varias hormonas (cortisol y adrenalina) al torrente sanguíneo. Estas hormonas intensifican su concentración, su capacidad de reaccionar y su fuerza. También aumentan el palpitar del corazón y la presión sanguínea, y agudizan el sistema inmune y la memoria. Después de haber afrontado el estrés puntual, el

cuerpo regresa a la normalidad. En los seres humanos la exposición prolongada al estrés y el mantenimiento de niveles circulantes altos de glucocorticoides y catecolaminas conllevan la supresión del sistema inmune, aumentando, por tanto, la susceptibilidad para contraer infecciones y prolongando la duración de enfermedades infecciosas^{42,43}.

Sin embargo, el estrés crónico presenta mayores problemas. Si el organismo frecuentemente enfrenta desafíos y el cuerpo está constantemente produciendo niveles más elevados de hormonas, no tiene tiempo de recuperarse. Las hormonas de estrés se acumulan en la sangre y, con el tiempo, pueden causar problemas de salud serios. El estrés crónico causa desgaste y deterioro del organismo, pudiendo afectar a diferentes funciones del organismo entre las que podemos destacar:

✓ **Sistema digestivo:** el dolor de estómago es una reacción común porque se vacía más despacio. También se acelera la actividad del colon, lo cual puede producir diarrea.

✓ **Obesidad:** aumento del apetito, lo que contribuye al aumento de peso. El exceso de peso o la obesidad conlleva un riesgo de contraer diabetes o enfermedad cardiovascular.

✓ **Sistema inmune:** debilitación del sistema inmune y, por consiguiente, mayor susceptibilidad a los resfriados y a otras infecciones.

✓ **Sistema nervioso:** ansiedad, depresión, pérdida de sueño y falta de interés en actividades físicas. La memoria y la habilidad de decidir pueden verse afectadas negativamente.

✓ **Sistema cardiovascular:** aumento de la presión sanguínea, de las palpitaciones del corazón y de las grasas en la sangre (el colesterol y los triglicéridos). También se elevan los niveles de glucosa en la sangre, especialmente en las horas de la noche, aumento del apetito, lo cual contribuye al aumento de peso. Todos estos efectos son factores de riesgo para las

enfermedades cardíacas, la aterosclerosis y la enfermedad cerebral, como también lo son la obesidad y la diabetes⁴⁴.

También se ha podido comprobar la relación directa entre el estrés crónico y la duración de diferentes enfermedades crónicas⁴⁵.

El estrés es una experiencia común de la vida diaria. El estrés, los malos hábitos alimentarios o el tratamiento con antibióticos pueden afectar de forma negativa a la flora intestinal. El estrés crónico está asociado al desarrollo del síndrome de colon irritable y al empeoramiento de los síntomas de la enfermedad inflamatoria intestinal, como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa^{45,46}. También se conoce que el estrés hace sensible al intestino, provocando alergias a ciertos alimentos.

El estrés es uno de los factores que influye en la variación de la microflora digestiva, provocando una alteración de la fisiología general y, por lo tanto, también de la del aparato digestivo. Cualquier situación de estrés, independientemente de su naturaleza (emociones, frío, cansancio psicofísico, etc.), produce un aumento de los movimientos peristálticos y de las secreciones de HCl y de mucus a nivel del tracto digestivo. Como consecuencia, se modifica la microflora y las actividades que dependen de ella⁴⁶⁻⁴⁸.

Se ha demostrado la efectividad de los probióticos para contrarrestar el efecto de las dietas no balanceadas, de infección en el intestino, y del estrés por medicamentos, por ejemplo, para restaurar la flora después de un antibiótico^{47,49}.

Los probióticos -que contienen un alto número de bacterias probióticas- tienen como finalidad restaurar la flora intestinal que se altera cuando ocurre algún tipo de estrés en el organismo.

Los investigadores creen que las bacterias probióticas probablemente compiten contra la bacteria dañina para ganar espacio, lo cual ayuda a disminuir las respuestas inflamatorias. Hay varios mecanismos que han sido postulados sobre la forma como actúan las bacterias probióticas. Por ejemplo, se cree que luchan con éxito por adherirse a la mucosa y ocupan el lugar de la bacteria que está causando el daño. La otra posibilidad es que compitan por los nutrientes que están disponibles en el lumen intestinal, de tal forma que los probióticos son más activos que los agentes perjudiciales. También se cree que los probióticos aumentan la respuesta inmune local,

generando una activación del sistema inmunológico que se vuelve más eficiente para deshacerse de los agentes nocivos. Existen varias explicaciones que confirman que el consumo de productos probióticos ayuda a controlar los problemas intestinales causados por estrés^{49,50}.

Probióticos y cáncer

La palabra **cáncer** agrupa, en realidad, un conjunto de diversas enfermedades que tienen en común una proliferación celular incontrolada. Se produce cuando, por razones aún no bien conocidas, algunas células pierden el control sobre su crecimiento y sus mecanismos de muerte natural (apoptosis o «el suicidio de las células», proceso por el cual las células viejas o dañadas se autodestruyen) y comienzan a multiplicarse desordenadamente y fuera de control formando tumores.

El cáncer es una enfermedad genética causada principalmente por la mutación y/o activación de genes implicados en la multiplicación celular, aunque los factores que originan este proceso son principalmente los relacionados con factores ambientales, como el tabaco, la alimentación y el estilo de vida⁵¹.

La dieta está integrada por un conjunto muy amplio de componentes que interactúan entre sí y con otros factores ambientales, metabólicos y de susceptibilidad genética, que aumentan o reducen el riesgo de cáncer. Hay que tener en cuenta que el proceso de carcinogénesis que se inicia con mutaciones celulares requiere habitualmente una exposición prolongada.

Dado que la alimentación es un punto clave tanto en la prevención como en el desarrollo de esta enfermedad, son muchos los estudios encaminados a aportar un poco de luz en ese ámbito. La primera vez que se relacionó cáncer y dieta fue en 1913, pero las primeras evidencias sobre la relación entre alimentación y cáncer provienen de estudios experimentales en animales, realizados en la década de 1940. Posteriormente, se llevaron a cabo numerosos estudios ecológicos y de migraciones humanas que mostraron que la incidencia y la mortalidad de cáncer de mama, colorrectal y de próstata están correlacionados positivamente con la alimentación de las sociedades de consumo occidentales^{52,53}.

Entre los cánceres más frecuentemente relacionados con la dieta, destacan el de colon, estómago, mama, próstata y pulmones, esófago, útero, hígado y páncreas. Se trata de una lista que incluye algunos de los cánceres más habituales, lo que ya por

sí mismo puede ser un buen argumento para cuidar la alimentación de cada día.

Como se ha comentado anteriormente, los probióticos son organismos vivos que al ser ingeridos afectan benéficamente al huésped mejorando su balance intestinal. Entre los microorganismos probióticos utilizados en el consumo humano se encuentran las bacterias ácido-lácticas (BAL) que comprenden *Lactobacillus spp* y *Bifidobacterium spp*, pero también se utilizan otras cepas bacterianas no patógenas, como *Streptococcus*, *Enterococcus* y microorganismos no bacterianos, como *Saccharomyces boulardii*, que es una levadura no patógena⁵⁴.

De todos los efectos beneficiosos para la salud que se han atribuido a las bacterias probióticas, quizás el más interesante y controvertido es el de la actividad contra el cáncer. La gran mayoría de los estudios en este ámbito trata de los efectos protectores contra el cáncer de colon.

Como se ha comentado el cáncer es causado principalmente por la mutación o activación de ciertos genes que controlan el crecimiento y la multiplicación celular, y es en este punto donde actúan los microorganismos probióticos, disminuyendo la absorción y producción de sustancias mutagénicas y carcinógenas. Muchas de estas sustancias tienen precursores y factores de riesgo como los radicales libres; los probióticos permiten una inhibición en la producción de estas sustancias a nivel de los precursores, evitando el paso de los productos procarcinogénicos a carcinogénicos, al impedir que actúen los grupos enzimáticos que permiten su transformación^{55,56}.

No hay evidencia experimental directa de la supresión del cáncer en los seres humanos como resultado del consumo de probióticos en los productos lácteos fermentados o no fermentados, pero sin embargo sí que hay evidencia indirecta, basada principalmente en estudios de laboratorio. En la literatura los estudios sobre los efectos anticancerígenos de las bacterias del ácido láctico se dividen en las siguientes categorías: estudios in vitro, estudios en animales, estudios epidemiológicos y estudios de intervención dietética humana.

En la línea de acción de los probióticos se encuentra el aumento de la producción de IgA, que disminuye la respuesta inflamatoria mediante una reducción en la aparición de radicales libres oxidantes, que son reconocidos agentes mutagénicos. Asimismo, se ha probado que los probióti-

cos disminuyen el índice mitótico e inducen un incremento en la apoptosis celular por acción directa de las citoquinas, que también se ven aumentadas por la administración de estos microorganismos^{57,58}.

En algunos estudios realizados sobre el cáncer recurrente de vejiga, se ha demostrado el antagonismo entre las células tumorales y los probióticos, al observarse que en individuos a los que se había extirpado el tumor y se había sometido a una posterior administración de probióticos, la reaparición del cáncer era más lenta y tardía respecto de los individuos que no ingirieron estas sustancias tras la intervención⁵⁵.

En países desarrollados, el cáncer colorrectal tiene una gran incidencia, de hecho, es el segundo en frecuencia entre las mujeres y el tercero entre los hombres, con aproximadamente un millón de nuevos casos al año en todo el mundo. Son numerosos los factores que pueden promover la aparición de este tipo de cáncer, si bien aproximadamente el 70% de los cánceres de colon y recto están asociados a factores ambientales, siendo la dieta el factor que más relevancia tiene en el desarrollo de este tipo de cáncer⁵⁹.

Los mecanismos generales por los que las bacterias probióticas pueden inhibir el cáncer de colon se están empezando a conocer bien, aunque no existe un único mecanismo sino que en la actualidad varios mecanismos posibles están siendo discutidos en la literatura.

Diferentes estudios en animales han mostrado que lactobacilos y las bifidobacterias modifican la microbiota intestinal reduciendo el riesgo de cáncer. Se postulan tres mecanismos:

1. Estos organismos pueden disminuir las enzimas fecales (glycosidasa, β -glucuronidasa, azoreductasa y nitroreductasa) asociadas con la conversión de precarcinógenos a carcinógenos.
2. Inhiben directamente la formación de células tumorales.
3. Algunas bacterias pueden unirse o inactivar el carcinógeno.

En un estudio realizado con voluntarios humanos, estos recibieron *L. acidophilus* o *L. casei*, se pudo comprobar como disminuyeron los niveles de las enzimas que convierten compuestos precarcinógenos en compuestos carcinógenos. Se desconoce si esto produce la reducción en la incidencia de cáncer. Se deben realizar investigaciones más extensas y ensayos clínicos⁵⁴.

Actualmente se desconocen los mecanismos específicos por los que los probióticos

pueden ejercer un efecto beneficioso frente al cáncer colorrectal. Diversos estudios *in vivo* llevados a cabo en animales de experimentación, así como estudios *in vitro* han permitido postular distintos mecanismos^{56,60}:

✓ Unión o absorción de carcinógenos (aminas heterocíclicas, aflatoxina B1 y benzopirenos), disminuyendo el riesgo de mutagenicidad que estos compuestos pueden inducir.

✓ Inhibición en la producción de metabolitos potencialmente carcinógenos, bien porque facilitan los procesos reductores de este tipo de metabolitos que pueden ser generados por algunas especies bacterianas del lumen intestinal, o bien porque inhiben las enzimas bacterianas que se supone que están implicadas en la síntesis o activación de carcinógenos, mutágenos y otros promotores de tumores (α -glucuronidasa, β -glucuronidasa, nitrato-reductasas y amoniaco).

✓ Estimulación de las enzimas del huésped implicadas en la inactivación de compuestos pro-cancerígenos.

✓ Alteración de la apoptosis (muerte celular programada) e inhibición de la proliferación celular descontrolada.

✓ Modulación de la respuesta inmunológica/inflamatoria, que se ha descrito se encuentra alterada en procesos tumorales. Actualmente existen pocos estudios epidemiológicos que asocien el consumo de probióticos con el cáncer colorrectal en humanos, aunque algunas investigaciones sugieren que el consumo de grandes cantidades de productos lácteos fermentados con lactobacilos o bifidobacterias puede relacionarse con una menor incidencia del cáncer de colon⁶¹. Así, un estudio epidemiológico realizado en Finlandia demostró que, a pesar del alto

consumo de productos grasos, la incidencia de cáncer de colon era menor que en otros países debido al gran consumo de leche, yogur y otros productos lácteos⁶². Sin embargo, estudios posteriores no han permitido proporcionar ninguna evidencia de que el consumo de este tipo de productos contribuya de forma relevante en la disminución del riesgo de cáncer de colon en humanos⁶³.

A pesar de que los probióticos representan un avance terapéutico importante, es necesario continuar en la investigación científica de los mismos, definir sus mecanismos de acción, realizar más estudios doble ciego para continuar dilucidando su utilidad, mecanismos de acción y determinar por qué y cuándo fallan en algunos eventos clínicos^{54,64-66}.

En la tabla 4 se hace un resumen de aquellos probióticos que tienen efectos beneficiosos sobre la salud⁶⁷.

Utilización

La utilización de probióticos se recomienda a cualquier persona que quiera favorecer el equilibrio de la flora intestinal. En personas con tratamiento antibiótico, en ancianos, en el embarazo, en alteraciones intestinales y para mejorar la intolerancia a la lactosa. Se utiliza también para disminuir los efectos de la diarrea y constipación, en enfermedades inflamatorias del intestino ya que al modular la flora intestinal aumenta la producción de inmunoglobulina A y estos pacientes tienen disminuidos las bacterias del género *Lactobacillus*.

No obstante por precaución, no se recomienda administrar probióticos a pacientes con inmunodepresión grave, personas sometidas recientemente a cirugía cardíaca, oral o gastrointestinal, pacientes con disfunción pancreática o diarrea

sanguinolenta, pacientes sometidos a radioterapia o lactantes con síndrome del intestino corto⁶⁸.

Dosis

Los alimentos funcionales elaborados con probióticos deben contener por lo menos 10 millones de células viables por cada 100 ml, dosis ideal para lograr los efectos deseados y aumentar las defensas naturales, sin embargo la dosis dependerá del microorganismo utilizado, de la forma de consumo y del efecto que se desee obtener.

CONCLUSIONES

Los probióticos constituyen una importante fuente de salud, al garantizar un equilibrio a nivel de nuestra microflora endógena, fortaleciéndonos el sistema inmune y mejorando las funciones anatomofisiológicas del organismo. Además, tenemos que tener en cuenta que la investigación probiótica, en la intersección de la gastroenterología con la inmunología y la microbiología es muy dinámica, tanto en la investigación básica como clínica y que el conocimiento de los mecanismos moleculares que conducen a la eficacia de los probióticos, estimulará la creación de nuevos alimentos con propiedades beneficiosas para la salud.

Por ello son necesarias nuevas investigaciones para definir cuáles son sus mecanismos de acción, realizar más estudios doble ciego que demuestren su utilidad en campos todavía no definidos y determinar por qué y cuándo no se obtienen resultados previsibles en algunos ensayos clínicos. **FC**

TABLA 4 EJEMPLOS DE PROBIÓTICOS CON EFECTOS BENEFICIOSOS SOBRE LA SALUD (OUWEHAND ET AL⁶⁷)

GÉNERO	ESPECIE	CEPA	EFEECTO
<i>Bifidobacterium</i>	<i>brevis</i>		Reducción de los síntomas del colon irritable
	<i>longum</i>	BB536	Reducción de los síntomas del colon irritable
	<i>lactis</i>	Bb12	Tratamiento de la alergia. Reducción de la diarrea por Rotavirus y de la incidencia de la diarrea del viajero
<i>Lactobacillus</i>	<i>acidophilus</i>	La5	Reducción de la diarrea asociada con antibióticos
	<i>casei</i>	Shirota	Reducción de la diarrea asociada con Rotavirus Inmunomodulación
	<i>johnsonii</i>	La1	Reducción de la colonización por <i>Helicobacter pylori</i> Reducción de los síntomas del colon irritable
	<i>plantarum</i>	299v	Reducción del colesterol LDL
	<i>reuteri</i>	SD2112	Reducción de la diarrea por Rotavirus
	<i>rhamnosus</i>	GG	Reducción de la diarrea por Rotavirus Inmunomodulación Reducción de la inflamación por colon irritable Tratamiento y prevención de las alergias

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics growth promoting factors produced by microorganisms. *Science* 1965; 147: 747-748.
- Fuller R. Probiotics in man and animal. *Journal of Applied Bacteriology* 1989; 66: 365-378.
- Hebuterne X. Gut changes attributed to ageing: effect on intestinal microflora. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6(1): 49-54.
- Blum SJ. Intestinal microflora and the interaction with immunocompetent cells. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1999; 76: 199-205.
- Shanahan F. The host-microbe interface within the gut. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 6: 915-931.
- Adlerberth I. A mannose-specific Adherent Mechanism in *Lactobacillus plantarum* conferring binding to the human colonic cell line HT-29. *Applied Environ Microbiol* 1996; 62(7): 2244-2251.
- Mollet B, Rowland I. Functional foods: at the frontier between food and pharma. *Current in opinion and biotechnology* 2002; 13: 483-485.

8. Guías prácticas de la Organización Mundial de Gastroenterología de probióticos y prebióticos. www.worldgastroenterology.org/assets/downloads/es/pdf/guidelines.
9. Floch MH, Walker A, Guandalini S, Hibberd P, Sherwood G, Surawicz C, et al. Recommendations probiótico use-2008. *J Clin Gastroenterol* 2008; 24: 104-108.
10. Sanders ME. Use of probióticos y yogurts in maintenance of health. *J Clin Gastroenterol* 2008; 42: 71-74.
11. Galdeano MC, de Moreno de LeBlanc A, Vinderola G, Bibas Bonet M, Perdígón G. Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria. *Clin Vaccine Immunol* 2007; 14: 485-492.
12. Mc Farland LV. Beneficial microbes. Health or hazard? *Eur Gastroenterol Hepatol* 2000; 16(4): 531-536
13. Penna FJ. Diarrea y probióticos. Simposium sobre utilidad de los probióticos en el manejo de las diarreas. *Rev Enfer Infec Ped* 1998; 11(6): 182.
14. Gill HS, Rutherford KJ, Prasad J, Gopal PK. Enhancement of natural and acquired immunity by *Lactobacillus rhamnosus* (HN001), *Lactobacillus acidophilus* (HN017) and *Bifidobacterium lactis* (HN019) *Br J Nutr* 2000; 83: 167-176.
15. Saloff-Coste C. Fermented milks: effects on the immune system. *Danone World Newsletter*, 1995; 9: 2-8.
16. Arunachan K, Gill HS, Chandra RK. Enhancement of natural immune function by dietary consumption of *Bifidobacterium lactis* (HN019). *Eur J Clinical Nut* 2000; 54: 263-267.
17. Parvez SK, Malik KA, Kang SA, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J. Applied Microbiology* 2006; 100: 1171-1185.
18. Haller D, Blum S, Bode C, Hammes WP, Schiffrin EJ. Activation of human peripheral blood mononuclear cells by nonpathogenic bacteria in vitro evidence of NK cells as primary targets. *Infect Immun* 2000; 68 (2): 752-759.
19. Donnet-Hughes A, Rochat F, Serrant P, Aeschli-mann JM. Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: effective dose. *J Dairy Sci* 1999; 82(5): 863-869.
20. Yazdanbakhsh M, Kreamsner PG, Van Ree R. Allergy, parasites and the hygiene hypothesis. *Science* 2002; 296: 490-494.
21. Hamilton-Miller JM. The role of probiotics in the treatment and prevention of *Helicobacter pylori* infections. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 22: 360-366.
22. Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev* 2003; 16: 658-672.
23. Isolauri E, Sütas Y, Kankaanpää P, Arvilommi H, Salminen S. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr* 2001; 73 (Suppl):444-450.
24. Laiho K, Ouwehand A, Salminen S, Isolari E. Inventing probiotic functional foods for patients with allergic disease. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology* 2002, 86(6): 75-82.
25. Niedzelin K, Kordecki H, Birkenfel B. A controlled, double-blind, randomized study on the efficacy of *Lactobacillus plantarum* 299v in patients with irritable bowel syndrome. *Eur Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 1-5.
26. Noabeck S, Johansson ML, Molin G, Ahmé S, Jeppsson B. Alteration of intestinal microflora is associated with reduction in abdominal bloating and pain patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2000; 95(5): 1231-1238.
27. Sazawall SG, Hiremath U, Dhingra P, Malik P, Deb S, Black RE. Efficacy of probiotics of acute diarrhoea meta-analysis of masked randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis* 2006; 6:374-382.
28. Johanson ML. Administration of different *Lactobacillus* strains in fermented oatmeal soup: in vivo colonization of human intestinal mucosa and effect on the indigenous flora. *Appl Environ Microbiol* 1993; 59(1):15-20.
29. Hickson M, D'Souza AL, Muthu N, Rogers TR, Want S, Rajkumar C. Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated antibiotic: randomized double blind placebo controlled trial. *BMJ* 2007; 335: 54-55.
30. Liu Q, Nobaek S, Adawi, D, Mao Y, Wang M, Molin G, et al. Administration of *Lactobacillus plantarum* 299 v reduces side effects of external radiation on colon anastomotic healing in an experimental model. *Colorectal Dis* 2001; 3: 245-252.
31. Delia P, Sansotta G, Donato V, Frosina P, Messina G, De Renzis C. Prevention of radiation-induced diarrhoea with the use of VSL # 3, a new high-potency probiotics preparation. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2150-2152.
32. Mukai T, Asasaka T, Sato E, Mori K, Matsumoto M, Ohori H. Inhibition of binding of *Helicobacter pylori* to glycolipid receptors by probiotic *Lactobacillus reuteri* FEMS. *Immunol Med Microbiol* 2002; 32: 105-110.
33. Gruchet S, Obregon M, Salazar G, Diaz E, Gotteland M. Effect of the ingestion of a dietary product containing *Lactobacillus johnsonii* on *Helicobacter pylori* colonization in children. *Nutrition* 2003; 19: 716-721.
34. Ulisse S, Gionchetti P, D'Aló S, Russo FP, Pesce I, Ricci G. Expression of cytokines, inducible nitric oxide synthase, and matrix metalloproteinases in pouchitis: effects of probiotic treatment. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2691-2699.
35. McCarthy J, O'Mahony L, O'Callaghan L, Sheil B, Vaughan EE, Fitzsimons N, et al. Double blind, placebo controlled trial of two probiotic strains in interleukin 10 knockout mice and mechanistic link with cytokine. *Gut* 2003; 52: 975-980.
36. Rachmilewitz D, Katakura K, Karmeli F, Hayashi T, Reinus C, Rudensky B, et al. Toll like receptor 9 signaling mediates the antiinflammatory effects of probiotics in murine experimental colitis. *Gastroenterology* 2004; 126: 520-528.
37. Rembacken B, Snelling A, Hawkey P, Chalmers D, Axon A. Non pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomized trial. *Lancet* 1999; 354: 635-639.
38. Fedorak R, Gionchetti P, Campieri M. VSL3 probiotic mixture induces remission in patients with active ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2003; 124: A377.
39. Campieri M, Rizzello F, Venturi A. Combination of antibiotic and probiotic treatment is efficacious in prophylaxis of post-operative recurrence of Crohn's disease: a randomized controlled study vs mesalamine. *Gastroenterology* 2000; 118: A781.
40. Prantero C, Scribano M, Falasco G, Andreoni A, Luzi C. Ineffectiveness of probiotics in preventing recurrence after curative resection for Crohn's disease: a randomized controlled trial with *Lactobacillus GG*. *Gut* 2002; 51: 405-409.
41. Gómez González B, Escobar A. Estrés y sistema inmune. *Rev Mex Neurosci* 2006; 7(1): 30-38.
42. Madden KS, Sanders VM, Felten DL. Catecholamine influences and sympathetic neural modulation of immune responsiveness. *Annual Review of Pharmacol Toxicol* 1995; 35: 417-448.
43. Robles TF, Kiecolt-Glaser JK. The physiology of marriage: pathways to health *Physiol Behav* 2003; 79(3): 409-416.
44. McEwen B, Sapolsky R. El estrés y su salud. *J Clinl Endocrinol & Metabolism* 2006; 91: 2.
45. Gómez González B, Escobar A. Psiconeuroinmunología: condicionamiento de la respuesta inmune. *Rev Mex Neurosci* 2003; 4: 83-90
46. Cagigas Reig AL. Prebióticos y probióticos: una relación beneficiosos. *Rev Cubana Aliment Nutr* 2002; 16(1): 63-68.
47. Roberfroid MB. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 1682-1687.
48. Cabrera Cao Y, Fadrags Fernández J. Probióticos y salud: una reflexión necesaria. *Rev Cubana Med Gen Integr* 2005; 21: 3-4.
49. Brunser O, Gotteland M, Cruchet S, Figueroa G, Garrido D, Steenhout P. Effect of a milk formula with prebiotics on the intestinal microbiota of infants after an antibiotic treatment. *Pediatr Res* 2006; 59: 451-456.
50. Brunser O, Figueroa G, Gotteland M, Haschke-Becher E, Magliola C, Rochat F. Effects of prebiotic or probiotic supplemented milk formulas on fecal microbiota composition of infants. *Asia Pac J Clin Nutr* 2006; 15(3): 368-376.
51. Agudo A, González CA. Potenciales cancerígenos de la dieta y riesgo de cáncer. *Med Clin* 2002; 119: 579-589.
52. Grennwald P, Clifford CK, Milner JA. Diet and cancer prevention. *Eur. J. Cancer* 2001; 37(8): 948-965.
53. Key TJ, Schatzkin A, Willet WC, Allen NE, Spencer EA, Travis RC. Diet, nutrition and the prevention of cancer. *Public Health Nutr* 2004; 7(1): 187-200.
54. Castro LA, Rovetto M.D. Probióticos: utilidad clínica. *Colomb Med* 2006; 37: 308-314.
55. Parvez S, Malik KA, Ah KS., and Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of Applied Microbiology* 2006; 100: 1171-1185
56. Kopp-Hoolihan L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. *J Am Diet Assoc* 2001; 101(2): 229-241.
57. Hirayama K, Rafter J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. *Microbes Infect* 2000; 2: 681-686.
58. Rafter J. Probiotics and colon cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2003; 17: 849-859.
59. Mc Garr SE, Ridlon JM, Hylemon PB. Diet, anaerobic bacterial metabolism and colon cancer: a review of the literature. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 98-109.
60. Brandy LJ, Gallaher DD, Busta FF. The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. *J Nutr* 2000; 130(Supl2): 410-414.
61. Shahani KM, Ayebo AD. Role of dietary lactobacilli in gastrointestinal microecology. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 2448-2457.
62. Malhotra SL. Dietary factors in a study of colon cancer from cancer registry, with special reference to the role of saliva, milk, and fermented milk products and vegetable fibre. *Med Hypotheses* 1977; 3: 122-134.
63. Kampman E, Giovannucci E, Van't Veer P, Rimm E, Stampfer MJ, Colditz GA, et al. Calcium, vitamin D, dairy foods, and the occurrence of colorectal adenomas among men and women in two prospective studies. *Am J Epidemiol* 1994; 139: 16-29.
64. Marteau P, Seksik P, Jian R. Probiotics and health: new facts and ideas. *Curr Opin Biotechnol* 2002; 13: 486-489.
65. Kaur IP, Chopra K, Saini A. Probiotics: potential pharmaceutical applications. *Eur J Pharmac Sci* 2002; 15: 1-9.
66. Ezendam J, Van Loveren H. Probiotics: immunomodulation and evaluation of safety and efficacy. *Nutr Rev* 2006; 64: 1-14.
67. Ouwehand AC, Salminen S, Isolauri E. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek* 2002; 82: 279-289.
68. Reid G, Sanders ME, Gaskins R, Gibson G. New scientific paradigms for probiotics and prebiotics. *J. Clin Gastroenterol* 2003; 37(2): 105-118.