



Las pruebas in vitro permiten comprender mejor los efectos terapéuticos de las cepas probióticas comercializadas

Paolo Pellegrino, Maria-Chiara Uboldi, Daniel Marquez y Marcos III Perez

La microbiota intestinal es única en cada persona y tiene un gran impacto en la salud. Los probióticos administrados por vía oral se utilizan para prevenir y/o tratar trastornos gastrointestinales (GI) y, podrían funcionar también en el tratamiento de afecciones no GI. Los estudios in vitro permiten comprender mejor las propiedades biológicas de los microorganismos utilizados de manera terapéutica y los efectos positivos que pueden tener in vivo.

En dos estudios in vitro se probaron las propiedades de nueve cepas microbianas determinadas aisladas de preparados comerciales (véase la **Tab. 1**) [1, 2]. Debido a la complejidad del tracto gastrointestinal, los resultados individuales in vitro no pueden explicar de forma definitiva los efectos fisiológicos. Sin embargo, proporcionan información importante para la investigación clínica y para la comprensión de los efectos in vivo.

Los probióticos y su estabilidad en un líquido intestinal simulado

Las cepas probióticas investigadas ejercen sus efectos positivos en el intestino, por lo que es relevante la estabilidad de las células en condiciones intestinales simuladas (véase la **Tab. 1**). Cabe destacar la capacidad de las diferentes cepas de *B. clausii* (*Bacillus clausii* OC, NR, SIN, T) para multiplicarse tras una disminución inicial del recuento de células carentes de fuentes de nutrientes en el fluido intestinal simulado (*B. clausii* SIN: disminución tras 2 h en comparación con t_0 [$p < 0,05$], proliferación tras 8 h de incubación en comparación con 4h [$p < 0,05$]). Después de 8h, solo se produjo una ligera reducción de 0,240 log en comparación con t_0 . La tolerancia de *B. clausii* y *B. coagulans* en las condiciones intestinales simuladas está bien documentada teniendo en cuenta su capacidad para formar esporas en comparación con las cepas no formadoras de esporas que suelen encontrarse en los productos comerciales [1].

Los probióticos y su unión a las células anfitrionas

Los microorganismos probióticos pueden competir con los patógenos por los sitios de unión a la mucosa y, de este modo, contrarrestar las infecciones causadas por organismos pató-

genos. Para conseguir este efecto, es necesaria la adhesión a la mucosa gastrointestinal. La incubación de microbios en agar que contiene mucinas porcinas es un método establecido para estudiar este comportamiento de unión. Las placas de agar que contienen mucina, así como las placas de agar sin mucina para el control negativo, se inocularon con la suspensión bacteriana. A continuación, las placas se incubaron a 37°C en condiciones aeróbicas y anaeróbicas y se determinó el número de células (UFC [unidades formadoras de colonias]) por pocillo inoculado. En las cepas *B. clausii*, *B. coagulans* y *B. breve*, las UFC/pocillo obtenidas tras la incubación de las mucinas tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas fueron significativamente superiores en comparación con los controles negativos ($p < 0,05$ a $p < 0,001$). *L. reuteri* solo se adhirió a las mucinas en condiciones anaeróbicas ($p < 0,001$) y *S. boulardii* solo en condiciones aeróbicas ($p < 0,01$) [1].

Los probióticos para la intolerancia a la lactosa

Los probióticos pueden producir enzimas que degradan los alimentos, como la β -galactosidasa, que puede favorecer la digestión en el caso de personas con intolerancia a la lactosa, reduciendo potencialmente los síntomas digestivos. Todas las cepas de *B. clausii*, *B. coagulans*, *B. breve* y *L. reuteri* fueron capaces de producir una cantidad significativamente mayor de β -galactosidasa en comparación con el control negativo ($p < 0,01$ a $p < 0,001$) [1].

Los probióticos para el estrés oxidativo

Debido a los numerosos procesos metabólicos que tienen lugar en el interior de las células, una acumulación de especies reactivas del oxígeno (ROS) puede causar efectos tóxicos.

Los probióticos que producen antioxidantes como la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD) pueden ser beneficiosos para reducir el estrés oxidativo. Todas las cepas analizadas mostraron la capacidad de producir CAT y SOD [1].

Los probióticos para la deficiencia vitamínica

Se ha demostrado que los probióticos producen principalmente vitaminas del grupo B, lo que podría ser útil para mantener la eubiosis intestinal y hacer frente a ciertas formas de deficiencia. Los microorganismos probióticos capaces de secretar riboflavina (vitamina B₂) podrían compensar una carencia de vitamina B₂ del anfitrión.

La carencia de riboflavina se debe con frecuencia a una dieta carente de productos ricos en riboflavina y es la deficiencia vitamínica más común en los países en desarrollo. *B. clausii*, *B. coagulans* y *L. rhamnosus* fueron capaces de producir ri-

boflavina ($p < 0,001$ en comparación con el control negativo) [1].

Los probióticos para favorecer el equilibrio fisiológico mediante ácidos grasos de cadena corta (AGCC)

Durante la fermentación microbiana de hidratos de carbono complejos en el intestino humano se producen AGCC. Se confirma la conexión entre la deficiencia de AGCC y la aparición de diversas enfermedades, así como los efectos curativos de las microbacterias probióticas, que pueden contrarrestar la deficiencia de AGCC.

Ácido acético: Regulación del metabolismo lipídico y del peso corporal. Las nueve cepas probióticas analizadas fueron capaces de secretar ácido acético [2].

Ácido propiónico: Mejora de la función de barrera, así como de la integridad intestinal, la glucosa y la homeostasis lipídica.

Tab. 1. Resumen de las propiedades in vitro de cada cepa microbiana

Cepa bacteriana	Supervivencia en el fluido intestinal	Unión a mucinas (aeróbico)	Unión a mucinas (anaeróbico)	Producción de β -galactosidasa	Producción de catalasa y superóxido dismutasa	Producción de riboflavina	Producción AGCC: Ácido acético	Producción AGCC: Ácido propiónico	Producción AGCC: Ácido butírico
<i>Bacillus clausii</i> NR	+ ¹	+	+	+	+ ⁴	+	+	+ ⁶	+
<i>Bacillus clausii</i> OC	+ ¹	+	+	+	+ ⁴	+	+	+ ⁶	+
<i>Bacillus clausii</i> SIN	+ ¹	+	+	+	+	+	+	+ ⁶	+
<i>Bacillus clausii</i> T	+ ¹	+	+	+	+ ⁴	+	++ ⁵	++ ⁶	+
<i>Bacillus coagulans</i> ATCC 7050	+ ¹	+	+	+	+	+	+	-	-
<i>Bifidobacterium breve</i> DSM 16604	- ¹	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>Limosilactobacillus reuteri</i> DSM 17938	+ ¹	-	+	+	+	-	++ ⁵	-	+
<i>Lactaseibacillus rhamnosus</i> ATCC 53103	+ ¹	- ²	- ²	- ³	+	+	+	-	-
<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745	+ ¹	+	-	- ³	+	-	+	+ ⁶	+

¹ Las cepas bacterianas *B. clausii* NR, OC, SIN y T, así como *B. coagulans*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus* y *S. cerevisiae* sobrevivieron en condiciones intestinales simuladas hasta 480 minutos, mientras que en *B. breve* no se detectaron células vivas después de 6 horas.

² *L. rhamnosus* fue incapaz de unirse a las mucinas tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas ($p < 0,01$ y $p < 0,001$, respectivamente).

³ *L. rhamnosus* y *S. boulardii* no produjeron β -galactosidasa.

⁴ *B. clausii* OC mostró una mayor actividad SOD en comparación con NR y T ($p < 0,01$ y $p < 0,05$, respectivamente).

⁵ *B. clausii* T y *L. reuteri* fueron los mayores productores de ácido acético.

⁶ *B. clausii* T produjo las mayores concentraciones de ácido propiónico, lo que difirió significativamente de *B. clausii* NR ($p = 0,0374$), *B. clausii* SIN ($p = 0,0112$) y *S. boulardii* ($p = 0,0007$).

Las cuatro cepas de *B. clausii*, así como *S. boulardii*, secretaron ácido propiónico. *B. coagulans*, *B. breve*, *L. reuteri* y *L. rhamnosus* no secretaban ácido propiónico [2].

Ácido butírico: Mejora de la función de barrera así como de la integridad intestinal, fuente de energía para las células epiteliales intestinales.

Las cuatro cepas de *B. clausii* mostraron una secreción comparable, superior a la de *L. reuteri* y *S. boulardii* [2].

Resumen

Una comprensión más detallada de los mecanismos probióticos podría facilitar la aplicación más precisa de tratamientos que consideran la microbiota en los pacientes.

Futuros estudios basados en esto podrían aclarar qué otras

áreas terapéuticas potenciales podrían explotarse en beneficio de los pacientes.

Literatura

1. Mazzantini D, Calvigioni M, Celandroni F, Lupetti A, Ghelardi E. In vitro assessment of probiotic attributes for strains contained in commercial formulations. *Sci Rep.* 2022 Dec 14;12(1):21640. doi: 10.1038/s41598-022-25688-z. PMID: 36517529; PMCID: PMC9751119.
2. Calvigioni M, Bertolini A, Codini S, Mazzantini D, Panattoni A, Masimino M, Celandroni F, Zucchi R, Saba A, Ghelardi E. HPLC-MS-MS quantification of short-chain fatty acids actively secreted by probiotic strains. *Front Microbiol.* 2023 Mar 3;14:1124144. doi: 10.3389/fmicb.2023.1124144. PMID: 36937254; PMCID: PMC10020375.

Conflicto de intereses: P. Pellegrino, M. C. Uboldi y M. III Perez son empleados de Sanofi. D. Marquez era empleado de Sanofi en el momento de la presentación y en el momento de la aceptación y publicación empleado de Boehringer Ingelheim.

Offenlegung: Medical Writing und Publikation finanziert von Sanofi
Divulgación: Redacción y publicación médica financiadas por Sanofi.

Información sobre el manuscrito:

Presentado el: 21.09.2023

Aceptado el: 09.02.2024

Publicado el: 07.03.2024