

© Modulación en la expresión de receptores tipo Toll (TLR) 2 y 4 en neutrófilos y monocitos y disminución de citocinas pro-inflamatorias, tras la administración de un simbiótico, en pacientes con infección por el virus de inmunodeficiencia humana

González-Hernández Luz Alicia^a, Fafutis-Morris Mary^b, Montes-Salcedo Karina Esthela^c,
Valle-Gutiérrez Luis Giovani^c, Andrade-Villanueva Jaime Federico^d

Resumen

Contexto: El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) induce una disfunción inmune propiciando la aparición de enteropatía asociada al VIH. No se han estudiado los beneficios ni la seguridad del uso de probióticos en pacientes con VIH.

Objetivo: Evaluar si la modificación de la microbiota intestinal con el uso de simbiótico modula la expresión de TLR2 y 4 en monocitos y neutrófilos de sangre periférica, así como evidenciar una disminución de citocinas proinflamatorias plasmáticas.

Material y métodos: Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, realizado en la Unidad de VIH/SIDA del Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde" y el Centro de investigación en Inmunología y Dermatología del Centro Universitario de Ciencias de la Salud de la Universidad de Guadalajara, durante el año 2008 al 2010. Se incluyeron 20 pacientes que fueron distribuidos en 4 grupos de 5 individuos con infección por VIH-1 documentada sin tratamiento antirretroviral y sin criterios para recibirlo (Estadio $\geq B$), con células T CD4 $^+$ > 350 céls./ μ l. El grupo A fue asignado a recibir simbiótico, el grupo B un probiótico, el C un prebiótico y el D placebo. Se cuantificaron las concentraciones de citocinas en plasma (IL-1 β , IL-10 y TNF- α) y la expresión de TLR2 y 4 en monocitos y neutrófilos mediante citometría de flujo.

Resultados: En el grupo A se observó una disminución en la concentración de IL-6 ($p < 0.05$), en las concentraciones de IL-1 β , IL-10 y TNF- α no hubo diferencias significativas. La expresión de TLR-4 en neutrófilos y monocitos presentó aumento en la expresión de TLR-4, sin embargo no hubo diferencia estadística ($p = 0.056$). En el grupo B no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de IL-6, TNF- α , IL-1 β e IL-10. La expresión de TLR-2 presentó un aumento estadísticamente significativo de la expresión de TLR-2 en neutrófilos ($p = < 0.016$), sin cambios significativos de la expresión en monocitos. En los grupos C y D no hubo significancia en la concentración de IL-1 β , IL-10 y TNF- α ; sin embargo, el grupo placebo tuvo una correlación negativa significativa, entre las cifras de células T CD4 $^+$ y la concentración de IL-6 ($r = -1.0$, $p = 0.01$).

Conclusiones: El uso de simbióticos disminuye los niveles de IL-6 en pacientes con VIH que aún no han desarrollado SIDA mostrando seguridad en su uso.

a. Médico Internista. Maestra en Ciencias en Inmunología. Médico Adscrito de la Unidad de VIH. Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde.

b. Doctora en Ciencias en Inmunología. Centro de Investigación en Inmunología y Dermatología. Profesora docente de la materia de Inmunología en el Centro Universitario de Ciencias de la Salud. UdG

c. Médico Cirujano Partero. Centro de Investigación de la Unidad de VIH. Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde.

d. Médico Infectólogo, Jefe de la Unidad de VIH del Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde". Profesor Investigador Titular "B" del CUCS, U de G. Investigador Nacional Nivel I del SIN. Director de la División de Disciplinas Clínicas del CUCS, UdeG.

Contacto: Andrade-Villanueva Jaime Federico. Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde. Calle Hospital 278, depto. Unidad de VIH/SIDA. Colonia El Retiro. CP. 44280. Guadalajara, Jalisco, México. Teléfono: 36147501 ext. 139 Correo electrónico: jandradev@msn.com

González-Hernández LA, Fafutis-Morris M, Montes-Salcedo KE, Valle-Gutiérrez LG, Andrade-Villanueva JF. Modulación en la expresión de receptores tipo Toll (TLR) 2 y 4 en neutrófilos y monocitos y disminución de citocinas pro-inflamatorias, tras la administración de un simbiótico, en pacientes con infección por el virus de inmunodeficiencia humana. *Rev Med MD* 2011; 3(2):60-66.

Decrease of pro-inflammatory cytokines and regulation of Toll-like receptors 2 and 4 expression in neutrophils and monocytes after the administration of a symbiotic on patients with infection by HIV

Abstract

Background: The human immunodeficiency virus (HIV) induces an immune dysfunction propitiating the onset of HIV associated enteropathy. Neither the benefits nor the safety of the use of probiotics on patients with HIV have been studied

Objective: To assess whether the intestinal microbiota modification with the use of symbiotic regulates the TLR 2 and 4 expression in peripheral blood monocytes and neutrophils. Moreover, to provide evidence of a diminution of plasmatic pro-inflammatory cytokines.

Methods: Randomized clinical trial, double blind, performed in the Unit of HIV/AIDS in Guadalajara's "Fray Antonio Alcalde" Civil Hospital and the Centro de investigación en Inmunología y Dermatología in the Health sciences campus of the University of Guadalajara during 2008 to 2010. 20 patients were included and distributed in 4 groups of 5 individuals with infection by HIV-1 without retroviral treatment and no admission criteria (Stage \geq B), with $CD4^+$ T cells > 350 cells/ μ L. The group A was assigned to received the symbiotic, the group B a probiotic, the group C a prebiotic, and the group D a placebo. The concentrations of cytokines in plasma were quantified (IL-1 β , IL-10 and TNF- α) and the TLR 2 and 4 expression in monocytes and neutrophils through flow cytometry.

Results: In the group A, was observed a decrease in the concentration of IL-6 ($p < 0.05$). For the IL-1 β , IL-10 and TNF- α concentrations, no significant difference was observed. The TLR-4 expression in neutrophils and monocytes presented an increase. However, it was not a statistical difference ($p = 0.056$). In the group B, no significant statistical differences were observed for IL-6, TNF- α , IL-1 β and IL-10. The TLR-2 presented a significant statistical increase in expression in neutrophils ($p = <0.016$), but with no significant changes in monocytes. In the groups C and D, there was no significance on the concentration of IL-1 β , IL-10 and TNF- α . However, the placebo group had a significant negative correlation, between T cells $CD4^+$ and IL-6 concentration ($r = -1.0$, $p = 0.01$).

Conclusions: The use of symbiotic diminishes the levels of IL-6 on patients with HIV who have not yet developed AIDS showing safety on use.

Introducción

Los mecanismos por los cuales el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) induce una disfunción inmune clínicamente definida como Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), ha sido objeto de estudio intenso desde que se descubrió el virus a principios de la década de los 80. Varios estudios demuestran que niveles altos de replicación viral no son suficientes para inducir una progresión a SIDA, en ausencia de un nivel incrementado de activación inmune.¹

La idea de que una activación inmune crónica juega un papel muy importante en la patogénesis de SIDA fue postulado primero por Ascher, Sheppard y Grossman a finales de los 80 y principios de los 90. Inmediatamente después Giorgi y colaboradores publicaron una serie de estudios clínicos sustentando que es fundamental la existencia de una activación inmune excesiva y aberrante para que se presente una disfunción inmune asociada al VIH.²

En la infección por VIH se encuentran incrementados la proliferación y recambio de células T. La mayoría de muertes

de células T $CD4^+$ involucra a células no infectadas, actualmente se ha observado que estas células mueren como consecuencia de una activación no antígeno específica y este proceso, no es solamente responsable del agotamiento de estas células, sino que también contribuye la activación inmune crónica.³

La activación inmune crónica se asocia con progresión hacia SIDA, sin embargo, aún está en debate qué es lo que ocasiona la activación inmune crónica asociada al VIH y tal parece que es de naturaleza multifactorial. Se han descrito posibles causas de activación inmune durante la infección por VIH, entre ellos: efecto directo del VIH sobre las células, capacidad del VIH para inducir una activación inmune sistémica, activación de los linfocitos T y B y activación inmune crónica secundaria a una translocación de productos microbianos.

Inmunidad innata en la infección por VIH

La inmunidad innata representa la primera línea de defensa en contra de los agentes infecciosos y es el sistema de mayor

importancia para prevenir y controlar la infección por VIH.⁴

La inmunidad innata reconoce patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), mediante los Receptores de Reconocimiento de Patógenos (PRR). Las señales a través de los PRR activan factores de transcripción como el sistema NF- κ B y factores reguladores de interferón (IFN) 3 y 7.⁵

Un prototipo de PRRs son los receptores tipo Toll (TLR), que son glucoproteínas integrales de membrana tipo 1. Actualmente se han identificado 11 TLR en humanos expresados en los macrófagos, neutrófilos, células B, células epiteliales, endoteliales y células T. Se localizan en la superficie celular o intracelularmente en los endosomas (TLR-3, 7, 8 y 9) y mediante la activación de un sistema de cinasas intracelulares inducen una respuesta inmune adaptativa apropiada.

Algunos TLR se estimulan directamente por el VIH, al reconocer la secuencia de ARN viral o indirectamente por las infecciones de otros microbios enviando señales a través de otros TLR. La translocación microbiana de la microbiota intestinal y sus componentes, como los Lipopolisacáridos (LPS) dentro de la circulación ha sido descrita como causa de una activación inmune sistémica crónica de los TLR.^{6,7}

Daño gastrointestinal en la infección por VIH y translocación microbiana

En 1984 Kotler y colaboradores describieron la enteropatía asociada al VIH, caracterizada por una atrofia en las vellosidades, hiperplasia de criptas, malabsorción de vitamina B12 y ácidos biliares, disminución en la capacidad para producir IgA secretora, provocando un sobre crecimiento de microorganismos en el lumen intestinal; además de, un daño epitelial con apoptosis de enterocitos, disrupción de las uniones adherentes e impermeables, provocando un aumento de la permeabilidad intestinal (hasta 5 veces más), depleción en el número de placas de Peyer, disminución de células T CD4⁺ en la lámina propia, favoreciendo con todo esto una translocación microbiana, con niveles incrementados de LPS en plasma, desarrollando una inflamación crónica local y sistémica persistente.^{7,9}

Probióticos, prebiótico y simbiótico

Los probióticos son microorganismos vivos, que administrados a dosis adecuadas proveen beneficios al hospedero.¹⁰ Los prebióticos son, por regla general, hidratos de carbono no digeribles que estimulan el crecimiento y la actividad de bacterias beneficiosas para la flora intestinal o microbiota.¹¹ Un simbiótico es la combinación de un prebiótico más probiótico.

A continuación se enlistan algunos efectos inmunomoduladores con el uso de prebióticos y probióticos.^{7,12,14}

1. Aumento en la producción de moco, provocando una disminución de la adherencia microbiana y mantenimiento de la integridad en la superficie mucosa.
2. Modulación en la secreción de citocinas (inmunorregulación).
3. Disminución de la translocación de productos bacterianos y/o bacterias, por competición microbiana.

4. Estimulación de la secreción de IgA secretora.

5. Provocan la activación de células T de memoria efectoras contra compuestos bacterianos específicos.

6. Inducen la proliferación de monocitos y una fagocitosis más efectiva.

7. Estimulan a los neutrófilos (ricos en defensinas, que son péptidos antimicrobianos).

8. Mejora directa de la microbiota, estimulando el crecimiento intestinal de bacterias benéficas e inhibiendo el crecimiento de bacterias patógenas mediante la reducción del pH del tubo digestivo y la producción de ciertos metabolitos bactericidas.

Son necesarias nuevas intervenciones para prevenir y/o reducir la propagación del VIH en la superficie de las mucosas, restaurar la integridad epitelial e inmunológica de GALT, para bloquear las vías a través de las cuales los productos microbianos causan una activación inmune crónica.

Objetivos

El objetivo del estudio fue evaluar si modificando la microbiota con el uso de un simbiótico, se logra modular la expresión de TLR2 y 4 en monocitos y neutrófilos de sangre periférica y disminuir la cantidad plasmática de citocinas proinflamatorias

Material y métodos

Diseño del estudio

Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, realizado en la Unidad de VIH/SIDA del Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde" y el Centro de investigación en Inmunología y Dermatología del Centro Universitario de Ciencias de la Salud de la Universidad de Guadalajara, durante el año 2008 al 2010. El estudio se realizó de acuerdo a las normas y principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos establecidos en la Declaración de Helsinki y fue sometido al comité de ética del Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde".

Población de estudio

Los criterios de inclusión fueron: ambos sexos, >18 años de edad, infección por VIH-1 documentada sin tratamiento antirretroviral y sin criterios para recibirla (Estadio \geq B), con células T CD4⁺ > 350 céls/ μ l, que estuvieran de acuerdo en participar en el estudio y que hayan firmado el consentimiento informado previamente al ingreso del estudio. Los criterios de exclusión fueron: uso previo de antirretrovirales, uso de antibióticos por > 15 días en los 30 días previos, femeninos en edad fértil con prueba de embarazo positiva durante la selección o durante el estudio, lactancia, o planeación de embarazo en los próximos 6 meses, no disposición de usar método anticonceptivo de barrera, pacientes con alguna enfermedad definitoria de SIDA, uso de fármacos inmunomoduladores (INF, ciclosporina, hidroxiurea e IL-2), quimioterapia, abuso de sustancias, privados de su libertad o que permanecen en algún reclusorio, con trastorno psiquiátrico o que estuvieran participando en otro estudio clínico o programa nutricional, que ya no

desearan continuar en el estudio o aquellos con una pobre adherencia (<95%) al tratamiento con los productos en estudio.

Estrategias de tratamiento

Se incluyeron 20 pacientes que fueron distribuidos en 4 grupos de 5 individuos cada uno. El grupo A fue asignado a recibir simbiótico, el grupo B un probiótico, el C un prebiótico y el D placebo. Los probióticos utilizados fueron *L. rhamnosus* HN001 + *Bifidobacteriumlactis* Bi-07 a una concentración estándar (109 UFC) por vía oral cada 24 h. El prebiótico utilizado fue inulina de agave azul 10 gr por vía oral, cada 24 h. El grupo con simbiótico recibió prebiótico + probiótico a las concentraciones y vía de administración antes mencionada. El grupo control recibió como placebo el vehículo del simbiótico que es un gel inerte, con las mismas características de color y sabor, pero sin los agentes activos.

Evaluación de resultados

Para la determinación de las concentraciones de IL-1 β , TNF- α , IL-6 e IL-10 se utilizaron Pruebas de inmunoabsorcencias ligados a enzimas (ELISA, del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) de la marca *Quantikine HS®, R&D Systems*. La intensidad de color (densidad óptica) obtenida, se midió mediante espectrofotometría.

Para determinar la expresión de TLR2 y 4, en monocitos y en neutrófilos, a través de la citometría de flujo utilizamos los anticuerpos de la marca *eBioscience anti-TLR2* marcado con FITC, anti-TLR4 con PeCy5, anti-CD14 con PE, anti-CD11b con PE. Extrajimos 4 mL de sangre periférica que se almacenó en un tubo con EDTA, dentro de las primeras 4 h posteriores a la toma, colocamos 50 μ L en un tubo para citometría, después añadimos 5 μ L de anticuerpo o isotipo correspondientes a cada tubo, incubamos por 30 minutos en oscuridad a 4°C, en seguida, lisamos los eritrocitos, paramos la reacción y fijamos las células, siguiendo las indicaciones del inserto del *ImmunoPrep® ReagentSystem*. Posteriormente conservamos a 4°C, protegidos contra la luz hasta su lectura en el citómetro de flujo a 10,000 eventos/segundo. Los resultados de cada una de las variables fueron analizados mediante el software WinMDI versión 2.9 y se reportaron como porcentaje de expresión e índice de fluorescencia media (IFM).

La cuantificación absoluta y el porcentaje de los linfocitos T CD4 $^+$ y los niveles de la carga viral para VIH-1, se llevaron a cabo en el laboratorio de referencia estatal de Jalisco.

Los exámenes clínicos se llevaron a cabo en el laboratorio central de análisis clínicos del hospital sede del estudio.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con los paquetes estadísticos SPSS versión 14 y Excel 2007. De manera inicial, se aplicó la prueba de Kolmogorov-Smirnov a todas las variables con el fin de verificar si los datos seguían un modelo de distribución normal. Se llevó a cabo un análisis descriptivo con medidas de tendencia central (media aritmética) y medidas de dispersión (desviación estándar y error estándar). Además de un análisis inferencial con pruebas no paramétricas (X^2 , correlación de Spearman, prueba de

Tabla 1. Características clínicas y demográficas de todos los grupos de estudio

	Grupo A Probiótico	Grupo B Simbiótico	Grupo C Prebiótico	Grupo D Placebo
	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE
Edad	28 ± 6	26 ± 8	27 ± 6	30 ± 8
IMC (kg/m ²)	24 ± 2	23 ± 6	25 ± 6	24 ± 6
Hombre:mujer	4:1	5:0	4:1	5:0
Estadio clínico	A: 15% B: 85%	A: 14% B: 86%	A: 10% B: 90%	A: 18% B: 82%

Kruskal-Wallis, Wilcoxon y U de Mann-Whitney) y se consideró un nivel de significancia de 0.05.

Resultados

Características clínicas y demográficas

Se incluyeron 20 individuos con infección documentada por VIH-1 en estadio B, con linfocitos T CD4 $^+$ > 350 céls/ μ L. El grupo A recibió probiótico (n=5), el grupo B simbiótico (n=4), el grupo C prebiótico (n=5) y el grupo D placebo (n=4). Se eliminaron 2 pacientes, uno en el grupo B, por pobre adherencia a la toma de los sobres y uno más en el grupo D por pérdida de seguimiento.

Como se muestra en la tabla 1, no existieron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos al evaluar las características demográficas y estadios clínicos entre los individuos enrolados.

Parámetros de laboratorio

Al inicio, durante y al final del estudio, los pacientes no mostraron un cambio estadísticamente significativo en cuanto a los parámetros de seguridad evaluados, tales como: hemoglobina, pruebas de función hepática, pruebas de función renal, ni metabólicos, como: colesterol y triglicéridos; y cabe señalar que todos los pacientes presentaron niveles normales de estos parámetros, tanto al inicio, como al final del

Tabla 2. Parámetros de laboratorio

	Grupo A Probiótico	Grupo B Simbiótico	Grupo C Prebiótico	Grupo D Placebo
	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE	Promedio ± DE
Hemoglobina (g/dL)				
Inicial	16 ± 1	16 ± 0.7	14 ± 1.4	17 ± 1.8
Final	16 ± 0.8	16 ± 0.8	14 ± 1.1	16 ± 1.4
Colesterol (mg/dL)				
Inicial	137 ± 16	161 ± 32	179 ± 53	148 ± 13
Final	139 ± 11	168 ± 30	180 ± 36	142 ± 16
Triglicéridos (mg/dL)				
Inicial	88 ± 27	105 ± 27	149 ± 65	118 ± 79
Final	88 ± 25	144 ± 87	168 ± 48	135 ± 70

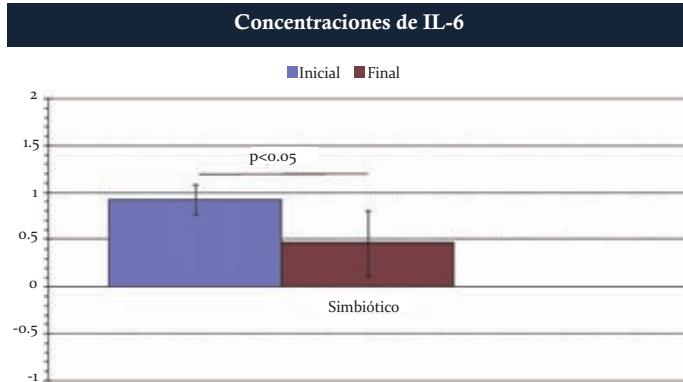


Gráfico 1. En la gráfica se muestran las diferencias encontradas entre el tiempo inicial y final del estudio. El descenso en la concentración, alcanzó una significancia estadística. Media ± error estándar.

estudio. En la tabla 2, se resumen los parámetros de seguridad de laboratorio más importantes.

Resultados en el grupo de estudio con simbiótico

Cuantificación de citocinas

Al cuantificar las concentraciones de las diferentes citocinas en plasma, se observó en este grupo, una disminución en la concentración de IL-6, y fue estadísticamente significativa ($p<0.05$) (gráfica 1); sin embargo, cuando se evaluaron las concentraciones de IL-1 β , IL-10 y TNF- α , no se encontraron diferencias significativas.

Expresión de TLR

La expresión de TLR-4 en monocitos y neutrófilos fue evaluada antes y después del consumo del simbiótico. Se presentó una tendencia hacia el aumento en la expresión de TLR-4 en neutrófilos (tanto en el IFM, como en %), sin embargo no hubo diferencia estadística ($p=0.056$) (gráfica 2). En monocitos no hubo cambios significativos en la expresión de los TLR evaluados.

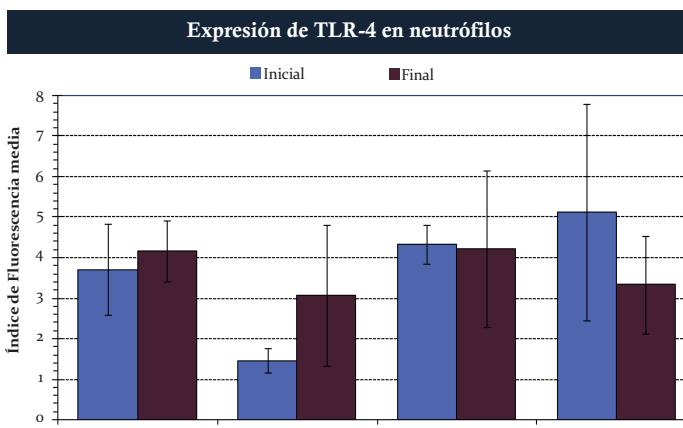


Gráfico 2. La expresión de TLR-4 se evaluó por citometría de flujo, en neutrófilos, reportando el IFM. En esta gráfica se muestran las diferencias encontradas entre los 4 grupos de estudio. Reportamos la media ± error estándar.

Resultados en el grupo de estudio con probiótico

Cuantificación de citocinas

Este grupo no mostraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de IL-6, TNF- α , IL-1 β e IL-10.

Expresión de TLR

En este grupo, administramos solamente bacterias gram positivas, las cuales son reconocidas principalmente por los TLR-2. Al analizar la expresión de TLR-2 en este grupo, observamos un aumento estadísticamente significativo de la expresión de TLR-2 en neutrófilos (IFM) comparando tiempo inicial y final ($p=<0.016$) (gráfica 3) por lo que demostramos que estos probióticos favorecen la expresión de TLR-2. Y no mostraron cambios significativos de la expresión de TLR-2 y 4 en monocitos.

Resultados en los grupos de estudio con prebiótico y placebo

Cuantificación de citocinas

La concentración de las citocinas en el plasma, en los grupos que recibieron prebiótico o placebo, el comportamiento fue similar, no hubo significancia entre el inicio y el final en la concentración de IL-1 β , IL-10 y TNF- α ; sin embargo, el grupo con placebo tuvo una correlación negativa significativa, entre las cifras de células T CD4 $^+$ y la concentración de IL-6 ($r=-1.0$, $p=0.01$) (gráfica 4).

Expresión de TLR

Ninguno de estos grupos mostraron cambios significativos en la expresión de TLR-2 y 4 en monocitos, ni en neutrófilos.

Carga viral para VIH-1 en plasma

En todos los grupos hubo un aumento de la carga viral para VIH-1, sin embargo, esto no fue estadísticamente significativo.

Discusión

Posterior al ingreso del VIH al organismo se genera un daño severo sobre las superficies mucosas durante todas las etapas de la infección. Esto se ve favorecido y perpetuado por un estado crónico de activación inmune secundaria al paso de microorganismos desde el lumen intestinal hasta el torrente sanguíneo, entre otros mecanismos.

Recientemente se han propuesto estrategias para manejar la enteropatía por VIH. Hasta la fecha no existen estudios en estos pacientes evaluando el uso de un simbiótico. En nuestro estudio, observamos que la administración de un simbiótico (combinando las cepas de *Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Bifidobacterium lactis* Bi-07 a una concentración de 109 UFC + 10 grs. de inulina de agave), es seguro en pacientes con inmunosupresión y además aporta beneficios para la salud.

Existe una correlación muy estrecha entre la microbiota y la regulación en la función de la barrera intestinal y del sistema inmune. El reconocimiento de estos microorganismos a través de TLR de células de inmunidad innata y células epiteliales, protege de microbios patógenos (a través de la producción de IgAs y péptidos antimicrobianos), repara el daño epitelial (a través de la inducción de proliferación, reparación de las uniones adherentes y resistencia a la apoptosis) y ayuda a mantener una homeostasis intestinal.¹⁵

En el grupo con simbiótico observamos, un aumento en la expresión de TLR-4 en neutrófilos. Se ha descrito que TLR-4 puede señalizar a través de dos vías, la vía dependiente e independiente de MyD 88 produciendo IFN- α , mismo que puede estimular la producción de β -defensinas (por células epiteliales), las cuales tienen actividad contra microorganismos como bacterias; disminuyendo así el sobre crecimiento microbiano y favoreciendo la concentración de microbiota benéfica, con menor capacidad de adhesión al epitelio gastrointestinal y menor posibilidad de translocación microbiana.^{7,16}

La IL-6 es una citocina pro-inflamatoria producida principalmente por macrófagos activados y células dendríticas activadas; se ha descrito que el uso de probióticos puede disminuir la producción de esta citocina y aumentar la secreción de IL-10 en mucosas inflamadas, lo que promueve la generación de células T reguladoras inducidas, mismas que pueden disminuir la zona de inflamación.¹⁷ Además, se le considera a esta citocina, como un marcador de activación inmune y de riesgo cardiovascular en pacientes con VIH, ya que provoca una ateroesclerosis acelerada.¹⁸ En nuestro estudio, encontramos una disminución en la concentración de IL-6 en el grupo con simbiótico. Este descenso podría reflejar una disminución en la activación inmune y de riesgo cardiovascular. Además, se presentó una correlación inversa estadísticamente significativa entre la concentración de IL-6 y la expresión de TLR-4 en neutrófilos, indicando también que niveles más bajos de IL-6 mejora la capacidad de una respuesta inmune innata.

El grupo con probióticos presentó un incremento en la expresión de TLR-2 en neutrófilos, es importante señalar que a pesar del aumento en la expresión de TLR-2 no hubo un incremento en la concentración de citocinas pro-inflamatorias, lo cual podría ser explicado por los mecanismos intracelulares naturales tolerogénicos en presencia de microorganismos no patógenos.

Este mismo grupo tuvo una tendencia hacia la elevación en la expresión de TLR-4 en neutrófilos (IFM) y muy discreta en monocitos, además hubo una correlación negativa entre la

Correlación negativa entre IL-6 y células T CD4 $^{+}$ en sangre periférica

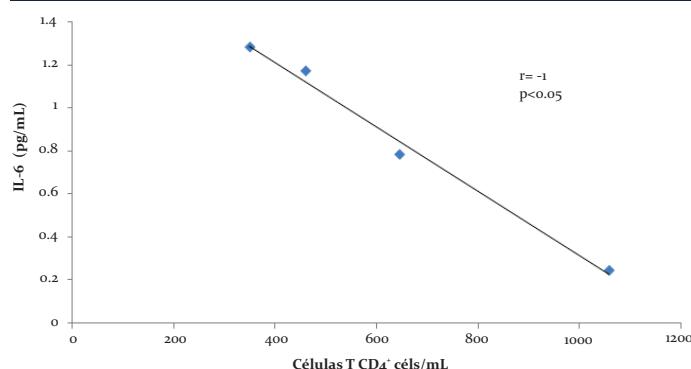


Gráfico 4. Grupo placebo. Correlación negativa entre la concentración de IL-6 en plasma y el número absoluto de células T CD4 $^{+}$ de sangre periférica. En donde se muestra una correlación estadísticamente significativa. Utilizamos la prueba de correlación de Spearman.

concentración de TNF- α y el porcentaje de expresión de TLR-4 ($r=-0.900$; $p=0.05$), lo que apoya lo ya publicado en la literatura donde TNF- α inhibe la expresión de TLR-4 en monocitos, aunque esto no se había descrito en pacientes con VIH.¹⁹

En el grupo con prebiótico, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en todas las variables analizadas y el comportamiento fue similar al grupo con placebo. Sin embargo, ninguno de los individuos que consumió el prebiótico desarrolló eventos adversos, por lo que podemos concluir que su administración es segura.

Finalmente, nuestro estudio mostró una correlación negativa entre la concentración de IL-6 y el número de células T CD4 $^{+}$ en el grupo placebo. Lo que apoyaría la teoría que existe sobre la activación inmune y la progresión hacia la enfermedad.

Conclusiones

De acuerdo a nuestro estudio el uso de simbióticos es seguro en pacientes con infección por VIH que aún no han desarrollado SIDA, ya que no se presentaron complicaciones en ninguno de los participantes. También encontramos que el uso de simbióticos disminuye los niveles de IL-6, lo que podría ser benéfico para estos pacientes al disminuir el riesgo cardiovascular. Se requieren estudios más grandes que evalúen otros parámetros inmunológicos, tales como: expresión de las moléculas HLADR/CD38 $^{+}$ que se consideran marcadores de progresión hacia la enfermedad.

Referencias bibliográficas

1. Sodora DL, Silvestri G. Immune activation and AIDS pathogenesis. *AIDS* 2008;22:439-446.
2. Sumpter B, Dunham R, Gordon S, Engram J, Hennessy M, Kinter A, et al. Correlates of preserved CD4(+) T cell homeostasis during natural, nonpathogenic simian immunodeficiency virus infection of sooty mangabeys: implications for AIDS pathogenesis. *J Immunol* 2007;178:1680-1691.
3. Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest* 2007;117:1175-1183.
4. Levy JA. Prospects for an AIDS vaccine: encourage innate immunity. *AIDS* 2004;18:2085-2086.

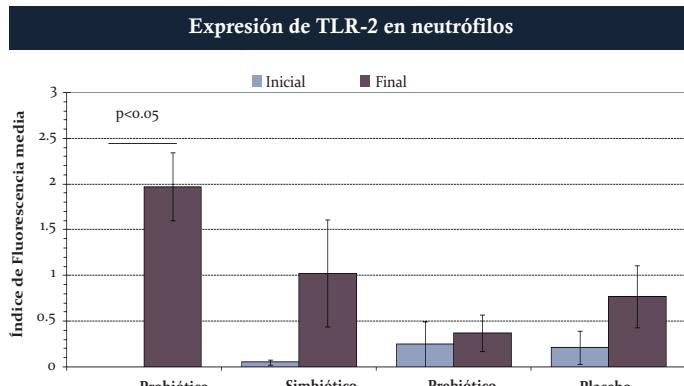


Gráfico 3. Expresión de TLR-2 (media \pm error estándar) en neutrófilos en células de sangre periférica. La expresión de TLR-2 se evaluó por citometría de flujo, reportando el IFM. En esta gráfica se muestran las diferencias encontradas entre los 4 grupos de estudio, en donde el grupo que alcanzó significancia estadística fue el grupo con probióticos ($p<0.05$).

5. Heidemann J, Domschke W, Kucharzik T, Maaser C. Intestinal microvascular endothelium and innate immunity in inflammatory bowel disease: a second line of defense? *Infect Immun* 2006;74:5425-5432.
6. Lester RT, Yao XD, Ball TB, McKinnon LR, Kaul R, Wachihi C, *et al.* Toll-like receptor expression and responsiveness are increased in viraemic HIV-1 infection. *AIDS* 2008;22:685-694.
7. Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2008;134:577-594.
8. Schacker TW, Brenchley JM, Beilman GJ, Reilly C, Pambuccian SE, Taylor J, *et al.* Lymphatic tissue fibrosis is associated with reduced numbers of naïve CD4+ T cells in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Clin Vaccine Immunol* 2006;13:556-560.
9. Centlivre M, Sala M, Wain-Hobson S, Berkhout B. In HIV-1 pathogenesis the die is cast during primary infection. *AIDS* 2007;21:1-11.
10. Goldin BR, Gorbach SL. Clinical indications for probiotics: an overview. *Clin Infect Dis* 2008;46 Suppl 2:S96-100; discussion S144-151.
11. Hoffman FA, Heimbach JT, Sanders ME, Hibberd PL. Executive summary: scientific and regulatory challenges of development of probiotics as foods and drugs. *Clin Infect Dis* 2008;46 Suppl 2:S53-57.
12. Senok AC, Ismael AY, Botta GA. Probiotics: facts and myths. *Clin Microbiol Infect* 2005;11:958-966.
13. Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J Appl Microbiol* 2006;100:1171-1185.
14. Mohamadzadeh M, Olson S, Kalina WV, Ruthe G, Demmin GL, Warfield KL, *et al.* Lactobacilli activate human dendritic cells that skew T cells toward T helper 1 polarization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:2880-2885.
15. Abreu MT. Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nat Rev Immunol* 2010;10:131-144.
16. Walker WA. Mechanisms of action of probiotics. *Clin Infect Dis* 2008;46 Suppl 2:S87-91; discussion S144-151.
17. Shida K, Nanno M. Probiotics and immunology: separating the wheat from the chaff. *Trends Immunol* 2008;29:565-573.
18. Brenchley JM, Douek DC. The mucosal barrier and immune activation in HIV pathogenesis. *Curr Opin HIV AIDS* 2008;3:356-361.
19. Tsai CS, Chen DL, Lin SJ, Tsai JC, Lin TC, Lin CY, *et al.* TNF-alpha inhibits toll-like receptor 4 expression on monocytic cells via tristetraprolin during cardiopulmonary bypass. *Shock* 2009;32:40-48.