

Efectos de las aflatoxinas y fumonisinas sobre el sistema inmunitario y la función intestinal

Pocos estudios han sido efectuados en seres humanos en lo que concierne al impacto de las aflatoxinas sobre el sistema inmunológico. Aquellos que están disponibles sugieren que sus efectos son similares a los observados en modelos animales pertinentes (IARC, 2002; Turner et al., 2003; Wild y Gong, 2010). De hecho no existe ningún estudio sobre el efecto de la fumonisina, sola o asociado a la aflatoxina, en la función inmunitaria en poblaciones de niños altamente expuestos. Dada la prevalencia de las exposiciones a las micotoxinas en las poblaciones vulnerables a las enfermedades infecciosas, es necesario diseñar y llevar a cabo estudios sobre el impacto de las aflatoxinas y fumonisinas, solas o en combinación, sobre el sistema inmunológico y la integridad intestinal.

Aflatoxinas

Los estudios *in vivo* efectuados en cerdos indican que la exposición a la aflatoxina B₁ (AFB₁) es capaz de activar las citoquinas a niveles relativamente bajos (~0,9 mg de AFB₁/kg de alimento) (Meissonnier et al., 2008). En las ratas Fischer 344, los niveles de interleucina-1 (IL-1), producida por los macrófagos peritoneales, se incrementaron 1 día después de una única inyección de 1 mg de AFB₁/kg de peso corporal (pc) (Cukrová et al., 1992). En otro estudio, también en ratas Fisher, se alimentó a los animales destetados con dietas alternativamente sin AFB₁ o que contenían de 0 a 1,6 ppm de AFB₁, cada 4 semanas durante 40 semanas, o una dieta que contenía 1,6 ppm de AFB₁ (~0,1 mg/kg de pc/día) administrada de forma continua. Los porcentajes de

células T y B en el bazo se vieron afectadas tras la administración cíclica. Un aumento significativo de la producción de IL-1 y de IL-6 por los linfocitos en cultivo fue observado durante el segundo ciclo de AFB₁ (12 semanas) y del segundo ciclo de “sin” (16 semanas) para las dosis más elevadas. Después de 8 semanas de administración continua e intermitente de AFB₁, se observaron infiltrados inflamatorios en el hígado, cuyo tamaño y número aumentaron a 12 semanas en los dos grupos que recibían las dietas con las dosis de 1,6 ppm, al mismo tiempo que se observó un pico de producción de IL-1 y de IL-6 (Hinton et al., 2003).

La administración de AFB₁ por sonda a ratas Fisher, a tasas de 5–75 mg/kg de pc durante 1 semana dio como resultado una disminución dosis-dependiente de la proporción de

células T CD8+ y de células asesinas naturales (NK) CD3-CD8a+ en el bazo. A esto se sumó una inhibición general de la expresión de IL-4 y del interferón gamma (IFN- γ) por las células T CD4+, y por las células CD8a+, y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) por las células NK. Estos resultados indican que la AFB₁ provoca respuestas inflamatorias mediante la inducción de la expresión de citoquinas (Qian et al., 2014).

Los estudios efectuados sobre líneas celulares muestran que la AFB₁ inhibe la viabilidad de las células madre hematopoyéticas y la quimiotaxis de neutrófilos inducida por IL-8 (Roda et al., 2010; Bruneau et al., 2012). Estos efectos, aunque identificados *in vitro*, probablemente hacen parte del mecanismo responsable de la alteración de la fagocitosis y la actividad bactericida por la AFB₁ observada *in vivo* en los modelos animales. La alteración de la función de las células blancas de la sangre es probablemente responsable de infecciones bacterianas y fúngicas más prolongadas y severas con una amplificación de la inflamación. Un aumento de los niveles de citoquinas pro-inflamatorias fue reportado en los humanos, asociado a la exposición a la AFB₁ (Jiang et al., 2005). Sin embargo, no está claro si esta activación de la expresión de citoquinas es predominantemente directa o indirecta (como consecuencia de la infección y/o inflamación prolongada). La activación directa de las citoquinas podría resultar del aumento de la relación del factor de transcripción o del aumento de la estabilidad del ARN mensajero (ARNm). Por otra parte, la activación de las citoquinas podría resultar de la presencia de una infección en el huésped debilitado. La alteración del sistema inmunitario, en un contexto de exposición a la AFB₁, ha sido

asociado a un aumento de viremias y parasitemias, a una acentuación de la sensibilidad a la infección y a una disminución de la respuesta a las vacunas en los animales (Bondy y Pestka, 2000; Meissonnier et al., 2006).

El intestino funciona como una barrera selectivamente permeable, colocando al epitelio mucoso en el centro de las interacciones entre la mucosa y el contenido luminal, en el que se encuentran los antígenos alimentarios, los productos microbianos y los nutrientes (Groschwitz y Hogan, 2009; Turner, 2009). Es en el intestino que los diferentes mecanismos inmunitarios participan en la defensa contra los patógenos. Las toxinas que alteran la integridad del epitelio intestinal tienen probablemente un impacto sobre la absorción de los nutrientes y líquidos restringiendo el acceso de los antígenos lumbinales al medio interno. Cualquier alteración de la capa celular ocasiona un aumento de su permeabilidad. Algunos estudios sobre el impacto de la AFB₁ de origen alimentario sobre la función intestinal en los modelos animales pertinentes, han sido publicados recientemente (Grenier y Applegate, 2013). La línea celular Caco-2 (células del epitelio colorrectal humano) es comúnmente utilizada como modelo *in vitro* de la integridad intestinal. En este modelo, la aflatoxina (150 μ M) provoca una disminución de la resistencia eléctrica transepitelial (TEER) (Gratz et al., 2007).

Fumonisin

Se realizaron dos estudios en ratones BALB/c, que recibieron una inyección subcutánea cotidiana de 2,25 mg/kg de pc de fumonisin B₁ (FB₁) durante 5 días. El tratamiento con FB₁ originó, únicamente en las hembras, una reducción notable

del peso del bazo del timo, así como un aumento de la población de células de linfocitos T y una disminución importante de la población de células inmaduras doble positivo (CD4+/CD8+) en el timo (Johnson y Sharma, 2001). En un segundo estudio efectuado bajo las mismas condiciones, el tratamiento con FB₁ redujo notablemente los niveles de inmunoglobulina G (IgG) en el plasma en los ratones hembra, mientras que en los ratones macho el efecto fue mucho menor. Además, la proliferación de los linfocitos T inducida por la concanavalina A y la fitohemaglutinina, se redujo considerablemente en los ratones hembra expuestos a la FB₁. Los resultados de este estudio sugieren que la FB₁ ejerce un efecto inmunosupresor en los ratones. La magnitud del efecto depende en gran medida del sexo, los ratones hembra son más susceptibles que los ratones macho (Johnson et al., 2001).

Varios estudios han demostrado que la fumonisin altera la integridad de la barrera intestinal (Bouhet et al., 2004) y la respuesta inmunitaria, afectando la salud de los animales. Entre los efectos sobre la respuesta inmunitaria figuran las alteraciones de la expresión de las citoquinas, la disminución de los títulos de anticuerpos en respuesta a la vacunación, y el aumento de la sensibilidad a infecciones secundarias (Bulder et al., 2012). En los cerdos, la exposición oral a las fumonisin da lugar a una disminución de los títulos de anticuerpos después de la vacunación y una mayor sensibilidad a las infecciones secundarias que varían en función del sexo (Oswald et al., 2003; Halloy et al., 2005; Marin et al., 2006). En otro estudio, a los cerdos se les administraron dosis de 1,5 mg/kg de pc de fumonisin durante 7 días. Este tratamiento produjo una disminución significativa

de la expresión de ARNm de IL-4 en el bazo y los ganglios linfáticos mesentéricos (Taranu et al., 2005). En este mismo estudio, los lechones fueron alimentados durante 28 días con raciones de 8 mg de FB₁/kg. Al octavo día los animales recibieron una inyección subcutánea de Agavac, una vacuna elaborada a partir de diversas cepas de *Mycoplasma agalactiae* inactivadas con formol, y una inyección de refuerzo 2 semanas más tarde. En los animales cuya alimentación estaba contaminada, los títulos de anticuerpos específicos de *M. agalactiae* inducidos por la vacunación eran más bajos que en los animales testigo. En cambio, la ingestión de alimentos contaminados no tuvo ningún efecto sobre la concentración sérica de las subclases de inmunoglobulinas (IgG, IgA e IgM). Los autores concluyeron

que la FB₁ alteró el perfil de las citoquinas, que a su vez afectó la respuesta de anticuerpos (Taranu et al., 2005).

La ingestión crónica de ~0,25 mg/kg de pc de fumonisinas con los alimentos, ocasionó una alteración del intestino en los cerdos, en comparación con los animales control: atrofia multifocal con fusión de vellosidades, necrosis apical de las vellosidades, vacuolización citoplasmática de enterocitos, y edemas de lámina propia del tejido intestinal. Los animales tratados también presentaron una dilatación de los vasos linfáticos y prominencia de los folículos linfoides (Bracarense et al., 2012). No se proporcionó ninguna información sobre el impacto funcional de estos cambios morfológicos. La modulación de la producción de citoquinas intestinales también fue observada en otros

estudios con cerdos expuestos a la fumonisina, así como en líneas celulares intestinales (Bouhet et al., 2006; Bracarense et al., 2012). Por lo menos dos estudios en ratones han mostrado que el tratamiento con FB perturba el metabolismo de los esfingolípidos en el intestino delgado. En uno de estos estudios la FB fue inyectada por vía subcutánea (una dosis única de 25 mg/kg de pc), mientras que en el otro fue administrada por sonda oral (una dosis única de 25 mg/kg de pc) (Enongene et al., 2000, 2002). Este trabajo ilustra la importancia del papel de los esfingolípidos y de sus metabolitos presentes en el intestino en la inflamación y la función de barrera, así como en la regulación de la respuesta inflamatoria asociada a la sepsis microbiana y al choque tóxico (Enongene et al., 2000, 2002).