



# Influencia de la microbiota en pacientes con trastornos del comportamiento

---

Beatriz Torrijo Bueno

Domingo González-Lamuño Leguina

**Máster en Condicionantes Genéticos, Nutricionales y Ambientales del Crecimiento y el Desarrollo**



# **INFLUENCIA DE LA MICROBIOTA EN PACIENTES CON TRASTORNOS DEL COMPORTAMIENTO. (INFUENCE OF MICROBIOTA IN PATIENTS WITH BEHAVIORAL DISORDERS)**

Autor: Beatriz Torrijo Bueno

71311459M

Tutor: Domingo González Lamuño Leguina

Universidad de Cantabria

## **RESUMEN**

Los estudios metabólicos en pacientes pediátricos con trastornos del comportamiento, habitualmente muestran alteraciones significativas en los patrones de ácidos orgánicos urinarios debidos a la presencia anómala de co-metabolitos derivados de la microbiota intestinal. Estas alteraciones parecen ser debidas a cambios en la microbiota normal debidas a conductas y patrones de alimentación alterados, que a su vez pueden repercutir en el comportamiento e irritabilidad de los pacientes. A partir de la observación en varios pacientes y la evidencia bibliográfica, podemos presumir que cambios en la flora o microbiota intestinal por ejemplo tras tratamiento con vancomicina, puede resultar una opción de tratamiento de las alteraciones del comportamiento en niños con Trastorno del Espectro Autista (TEA). No obstante, de acuerdo a la experiencia acumulada, se conoce que estos cambios no son permanentes, siendo necesario un seguimiento posterior. Dentro de las diferentes posibilidades, los probióticos, prebióticos acompañados de una dieta baja en azúcar y grasas saturadas puede prolongar la mejoría observada. El uso de probióticos debería evaluarse periódicamente, especialmente en los cambios de estaciones o cuando se produzcan variaciones significativas en la dieta del paciente. Se discute la terapia de trasplante fecal como una opción terapéutica, pero son necesarios más estudios que evalúen su efectividad sobre estos pacientes. El presente trabajo es una revisión bibliográfica de las posibles intervenciones sobre la microbiota en niños con TEA a partir de varios casos clínicos estudiados y tratados en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.

**Palabras clave:** microbiota, autismo, trastorno obsesivo compulsivo, comportamiento, probióticos.

## **ABSTRACT**

Metabolic studies in pediatric patients with behavioral disorders, usually significant alterations in the urinary organic acid patterns due to the anomalous presence of co-metabolites derived from the intestinal microbiota. These alterations appear to be due to changes in the normal microbiota due to altered eating behaviors and patterns, which may in turn have an impact on patient's behavior and irritability. From the observation in several patients and the bibliographic evidence, we can presume that it changes in the flora or the intestinal microbiota for example after the treatment with vancomycin, can be an option of treatment of the alterations of the behavior in children with Autism Spectrum Disorder (TEA). However, according to accumulated experience, it is known that these changes are not permanent and necessary follow-up. Within the different possibilities, probiotics, prebiotics accompanied by a diet low in sugar and saturated fats can prolong the best observation. The use of probiotics should be evaluated periodically, especially in seasonal changes when there are significant variations in the patient's diet. Fecal Transplantation Therapy is discussed as a therapeutic option, but there are more studies evaluating its effectiveness on these patients. The present work is a bibliographical review of the possible interventions on the microbiota in children with ASD from several clinical cases studied and treated in the HUMV.

**Key words:** microbiota, autism, obsessive-compulsive disorder, behavior, probiotics.

## Índice de contenido

1.	INTRODUCCIÓN.....	5
	1.1 La microbiota intestinal .....	5
	1.2 Interacción microbiota-cerebro .....	7
	1.3 Justificación .....	10
2.	HIPÓTESIS.....	11
3.	OBJETIVOS .....	11
4.	METODOLOGÍA .....	11
5.	RESULTADOS.....	12
6.	DISCUSIÓN.....	15
	6.1 Microbiota y Trastorno del Espectro Autista.....	15
	6.2 Microbiota y Trastorno obsesivo-compulsivo .....	18
	6.3 Antibióticos.....	20
	6.4 Probióticos .....	21
	6.5 Transplante microbiota fecal.....	24
	6.6 Prebióticos .....	26
	6.7 Alimentación y estabilidad.....	27
7.	CONCLUSIONES.....	29
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	30

## **1. INTRODUCCIÓN**

¿Pueden las bacterias del intestino influir en el comportamiento? Hace unas décadas esta pregunta se consideraría irracional. En el momento actual es motivo de estudio.

Una alteración en la microbiota intestinal normal, también llamada “disbiosis” se asocia con trastornos como la enfermedad inflamatoria intestinal, obesidad, hipertensión, diabetes y trastornos neurológicos (1).

Cada vez es más evidente que tanto la microbiota intestinal como los genes de los mismos, denominados microbioma intestinal, ejercen efectos sobre el cerebro de manera recíproca (2).

Una cuestión que debe decidirse es si el autismo conduce a la flora alterada y / o la flora alterada desempeña un papel en la enfermedad o sus síndromes (3).

### **1.1 La microbiota intestinal**

El estómago y el intestino delgado poseen relativamente pocos organismos debido al ambiente ácido, la presencia de bilis y jugo pancreático, y los efectos del peristaltismo limitan la colonización estable. Por lo tanto, es en el colon donde se sitúa la mayoría de la microbiota que interactúa con el huésped humano. El conocimiento y la caracterización de la microbiota del intestino humano tanto en la salud como en la enfermedad se han expandido rápidamente en los últimos 10 años, impulsado por una mayor disponibilidad y coste reducido de la secuenciación de genes. Esto ha proporcionado pruebas convincentes del papel vital del microbioma intestinal en el metabolismo normal, la función inmunológica, la fisiología y la prevención de determinadas enfermedades. Además de las acciones directas sobre la mucosa intestinal y el sistema nervioso entérico, muchos mediadores químicos producidos por el microbioma del intestino entran al torrente sanguíneo y se comunican con los órganos distales, como el cerebro, el corazón y el hígado (4).

A pesar de que no existe una definición estándar de un microbioma de intestino sano, las principales características que debe poseer se pueden resumir en: altos niveles de diversidad, estabilidad y resistencia al cambio relacionado con el estrés (antibióticos, infecciones, inmunosupresión) (4).

Aunque en nuestra etapa fetal, el intestino no es estéril, es en el momento del nacimiento y posteriormente cuando las bacterias comienzan a colonizar

masivamente el intestino (2). A medida que se desarrolla el recién nacido, su microbiota también modifica su composición en función de diversos factores como son el tipo de parto, el tipo de lactancia, el tratamiento con antibióticos, cambios asociados a la edad, estrés y patologías...

A estos factores extrínsecos hay que añadir las características inmunológicas particulares de cada individuo, consecuencia del genotipo que determinan el desarrollo del sistema inmune y sus posteriores respuestas frente a estímulos (5).

En la etapa adulta, el ser humano adulto alcanza hasta un 1 kg de bacterias, arqueobacterias, virus, protozoos y hongos (2).

Los filos más predominantes en el tracto intestinal son los *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Actinobacteria*. Las bacterias anaerobias, levaduras, virus y bacteriófagos también contribuyen a la diversidad bacteriana. Entre las funciones reconocidas se encuentra mantener la integridad de la barrera epitelial, participar en la motilidad gastrointestinal y regular el metabolismo de ciertos nutrientes (1).

La interacción que mantienen estos comensales con el organismo puede verse perturbada por ciertos eventos como infecciones, enfermedades gastrointestinales, cambios dietéticos, antibióticos, corticosteroides, antiácidos y trastornos neurológicos (1).

Se ha demostrado que pacientes con desórdenes gastrointestinales experimentan episodios de ansiedad y depresión más frecuentemente que individuos sanos. Por otra parte, las emociones negativas, los acontecimientos estresantes de la vida y rasgos de personalidad como la neurosis se han asociado con el Síndrome de Intestino Irritable (SII), colitis, enfermedad de Crohn y dispepsia (6).

El estrés crónico promueve la liberación de citoquinas pro-inflamatorias y de proteína c-reactiva. Esta proteína estimula el eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA) mediante la liberación de hormona liberadora de corticotropina desde el hipotálamo, que estimula la activación del sistema nervioso simpático y la secreción de la hormona adrenocorticotrópica, que finalmente estimula la liberación de cortisol desde la corteza suprarrenal. De hecho, los pacientes con desórdenes gastrointestinales y una ansiedad y depresión exacerbada tienen altos niveles de cortisol. Debido a la alteración del eje HPA, se produce una perturbación cognitiva y emocional. Como resultado, los pacientes con desórdenes gastrointestinales se caracterizan por altas tasas de hipersensibilidad tales como el dolor (6).

## 1.2 Interacción microbiota-cerebro

Cada vez hay más evidencia de que los microorganismos pueden interactuar directamente con elementos del sistema neurofisiológico del huésped de una manera no invasiva que finalmente da lugar a la modificación del comportamiento del huésped (7).

Acercarse al microbioma desde un punto de vista basado en endocrinología microbiana puede proporcionar una comprensión de las vías específicas por las cuales los microorganismos pueden influir en el comportamiento y, por lo tanto, conducir a nuevos enfoques para el tratamiento de enfermedades mentales específicas basadas en la modulación del eje microbioma-intestino-cerebro (8).

El sistema nervioso central (SNC) está estrechamente relacionado con el tracto gastrointestinal, y desempeña un papel importante en la regulación de la función intestinal y la homeostasis.

A su vez, la microbiota intestinal puede afectar al SNC y las células nerviosas, participando en la regulación de la función del sistema nervioso y afectando a la patogénesis y la progresión de las enfermedades relacionadas con el mismo. Debido a la compleja relación existente entre la población de microorganismos intestinales y el huésped, se ha propuesto un nuevo concepto: el eje de la microbiota intestinal-cerebro. El eje de la microbiota intestinal-cerebro es el foco de la investigación reciente sobre la microecología intestinal (7).

Este sistema de comunicación integra la señalización neural, hormonal e inmunológica entre el intestino y el cerebro con conexiones neuronales que implican el sistema nervioso central (SNC), autónomo (SNA) y entérico (SNE) (9).

La regulación de los nervios entéricos consiste en cuatro niveles:

- El primer nivel es la regulación local del SNE: el SNE consta de dos plexos nerviosos, los plexos mioentéricos y submucosales, y las neuronas motoras y las neuronas sensoriales del SNE se conectan entre sí para realizar una función independiente de integración y procesamiento de la información, similar a la situación del cerebro y la médula espinal.

- El segundo nivel se localiza en los ganglios prevertebrales, que recibe información transmitida por los nervios del SNE y SNC.

- El tercer nivel es el SNC. El cerebro y la médula espinal reciben señales sobre cambios ambientales tanto externos como internos. El SNC se encarga de integrar esta información, transformarla en respuestas reguladoras y transmitirla bien a través del SNE, o bien mediante los sistemas nerviosos autónomo y neuroendocrino para regular el músculo liso, las glándulas y los vasos sanguíneos.

- El cuarto nivel consiste en centros cerebrales avanzados; la información procedente de la corteza y la región subcortical convergen hacia abajo a núcleos específicos del tronco encefálico de los ganglios basales. Este tipo de red neuroendocrina, que conecta el tracto gastrointestinal con el SNC en diferentes niveles, es la base estructural para la función del eje intestino-cerebro de la microbiota.

Trastornos del control neurológico en cualquier nivel afectará la función del intestino y del cerebro. El intestino, además, tiene una conexión neural directa con el cerebro a través del nervio vago, y los microorganismos intestinales pueden afectar las funciones cerebrales a través de este; después de una vagotomía, los microorganismos no serían capaces de regular el comportamiento (7). Tratamientos con *Bifidobacterium longum* y *Lactobacillus rhamnosus* redujo comportamientos relacionados con la ansiedad en ratones, pero este efecto no se observó en ratones vagotomizados (9).

La influencia de la microbiota intestinal sobre el comportamiento también puede explicarse tanto por vías directas como indirectas:

- Producción de neurotransmisores

Hay bacterias que producen una serie de neurotransmisores implicados en trastornos psiquiátricos: serotonina (*Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia*, *Enterococcus*), dopamina (*Bacillus*, *Serratia*),  $\gamma$ -aminobutírico o GABA (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*), norepinefrina (*Escherichia*, *Bacillus*, *Saccharomyces*) y acetilcolina (*Lactobacillus*). Estos neurotransmisores secretados por microorganismos en la luz intestinal pueden inducir a las células epiteliales a liberar moléculas que modulan en última instancia la señalización neural dentro de la SNE o que actúan directamente sobre axones aferentes (9).

- Liberación intestinal de hormonas y eje HPA (hipotalámico-pituitario-supradrenal)

La actividad del eje HPA es el sistema central de respuesta al estrés y afecta a la microbiota intestinal y viceversa. Por ejemplo, la colonización intestinal por *Bifidobacterium* puede atenuar el aumento de la respuesta de éste; no



obstante, esta inhibición sólo puede iniciarse en las primeras etapas de la vida, lo que indica que la exposición más primitiva a los microorganismos es necesaria para la inhibición de la regulación neural por el eje HPA. Éste es muy importante para el aprendizaje y la memoria, y su perturbación puede conducir a un deterioro de la memoria del hipocampo (7).

- Implicación de la amígdala

La amígdala juega un papel crítico en la evaluación de los estímulos emocionales y la transmisión de las respuestas emocionales a través de sus conexiones con regiones corticales y subcorticales del cerebro, incluyendo el hipotálamo. La amígdala se activa por estímulos de una variedad de modalidades sensoriales, incluyendo viscerales, visuales, olfativas y auditivas.

El aumento de la activación de la amígdala ante estímulos particulares ha sido observado en individuos con síndrome del intestino irritable (SII) y con trastornos de ansiedad, y tiene especial relevancia para pacientes con Trastornos del Espectro Autista (TEA) debido a las anomalías amigdaláceas que presentan (10).

- Activación del sistema inmune y reacción inflamatoria

La microbiota intestinal también juega un papel importante en la modulación tanto del sistema inmune intestinal como general y es esencial para preservar funciones incluyendo la maduración de GALT (tejido linfoide asociado al intestino), la secreción de IgA y la producción de importantes péptidos antimicrobianos.

Estas bacterias pueden comunicarse con el huésped a través de los receptores Toll-like (TLR) que están presentes en las células del sistema inmune innato. Estas interacciones activan importantes vías de señalización intracelular que pueden modular procesos como la supervivencia celular, la replicación, la apoptosis y una respuesta inflamatoria. Más específicamente, las interacciones TLR provocan el primer paso en la producción de citoquinas, las moléculas que están involucradas en la respuesta inflamatoria. Dado que la manipulación del perfil del microbioma tiene la capacidad de influir en los niveles sistémicos de citoquinas, es posible que la microbiota implemente su efecto sobre el comportamiento influyendo en estas citoquinas sistémicas. El sistema inmune del huésped también puede controlar la composición microbiana mediante la liberación de moléculas que se defienden contra diversos microorganismos patógenos (9).

Diversas cepas de probióticos atenúan los niveles periféricos de las citoquinas proinflamatorias interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleucina-6 (IL-6) e interferón- $\gamma$  (9).

También se ha demostrado que el microbioma es capaz de regular la permeabilidad de la barrera hematoencefálica mediante la expresión de proteínas de unión estrecha (claudina y ocludina) que influye posteriormente en la infiltración parenquimal cerebral de metabolitos producidos por la microbiota (11).

Esta capacidad de los microorganismos contenidos dentro del microbioma para influir en el comportamiento a través de una ruta no infecciosa y, posiblemente no mediada inmunológicamente, puede ser debido a su capacidad de producir y reconocer neuroquímicos que son exactamente análogos en estructura a los producidos por el sistema nervioso del huésped. Esta forma de señalización, que se basa en las interacciones neuroquímicas bidireccionales entre el sistema neurofisiológico del huésped y el microbioma, se introdujo hace dos décadas y se ha denominado endocrinología microbiana (8).

### **1.3 Justificación**

El interés en el reequilibrio de la microbiota del intestino humano para tratar la enfermedad está creciendo. Los tratamientos con dieta, antibióticos, probióticos, prebióticos y trasplantes de microbios fecales son tratamientos con potencial informado. Sin embargo, en pacientes con TEA, sólo se han notificado mejoras temporales de los síntomas en el tratamiento con vancomicina, y los probióticos han tenido resultados clínicos mixtos con un análisis microbiano mínimo o un seguimiento a largo plazo (12).

En este proyecto, se realiza una revisión bibliográfica del efecto de los tratamientos con antibióticos, probióticos, y prebióticos así como trasplante fecal sobre los niños con trastornos del comportamiento. Como punto de partida se utilizaron tres intervenciones realizadas en pacientes del Hospital Marqués de Valdecilla de Santander, los cuales fueron sometidos a un tratamiento con vancomicina y posterior prescripción de probióticos y recomendación de una dieta alta en fibra. Los resultados se analizaron a través de un análisis de ácidos orgánicos en orina con el objetivo de observar variaciones antes y después de la intervención.

La bibliografía muestra la influencia de la microbiota en el comportamiento, pero ¿hasta qué punto somos capaces de modificarla? Y lo que es más importante, ¿es posible, una vez modificada la microbiota hacia un perfil más favorable para la

conducta, mantenerlo estable en el tiempo?, y si no es así, ¿cada cuánto tiempo sería recomendable una intervención farmacológica o nutricional?

## **2. HIPÓTESIS**

Los pacientes con trastornos de la conducta presentan perfiles anómalos de ácidos orgánicos en orina, lo que indica una posible disbiosis intestinal. La intervención sobre la microbiota intestinal se refleja en cambios en el perfil de ácidos orgánicos y, potencialmente, en modificaciones positivas de la conducta.

## **3. OBJETIVOS**

En primer lugar, una revisión bibliográfica del efecto de los tratamientos con antibióticos, probióticos, y prebióticos así como el trasplante fecal sobre los niños con trastornos del comportamiento

En segundo lugar, analizar los cambios en el perfil de ácidos orgánicos urinarios en tres pacientes con trastornos de conducta sometidos a tratamiento secuencial con vancomicina oral, probióticos y recomendaciones dietéticas. Evaluar si dicha intervención se asocia con una mejoría subjetiva en la conducta de los pacientes.

## **4. METODOLOGÍA**

### **MEDICIÓN DE LOS ÁCIDOS ORGÁNICOS EN ORINA**

En muchos niños autistas, se ha detectado en orina, excreción de metabolitos anormales, o niveles anormales de ácidos orgánicos.

Las acumulaciones de ácidos orgánicos en la orina pueden indicar disfunción metabólica, insuficiencia de nutrientes, o sobrecrecimiento microbiano. La prueba de ácidos orgánicos urinarios, perfil de cribado metabólico, mide los metabolitos seleccionados que sirven como importantes indicadores de diagnóstico del metabolismo anormal en el caso de niños autistas. La prueba de ácidos orgánicos parece ser una prueba de diagnóstico útil para indicar un crecimiento excesivo de levaduras y bacterias en el tracto gastrointestinal de los niños con autismo (13). La medición de los ácidos orgánicos en la orina evalúa cuatro áreas críticas del metabolismo: la función gastrointestinal, la energía celular y el metabolismo mitocondrial, el metabolismo de los neurotransmisores, el equilibrio de

aminoácidos y ácidos orgánicos, influenciado por los cofactores vitamínicos / minerales. Estas áreas del metabolismo son muy importantes en el caso de los pacientes autistas. Los niveles anormales de ácidos orgánicos pueden ser debidos a las deficiencias de enzimas heredadas o adquiridas, la acumulación de sustancias tóxicas, deficiencias de nutrientes específicos, o los efectos de fármacos (14).

Inicialmente, en este trabajo se midió los ácidos orgánicos en orina a tres pacientes antes y después de un tratamiento con vancomicina. No obstante, uno de ellos no cumplió correctamente el tratamiento establecido, por lo que no mostró diferencias significativas tanto en el perfil de ácidos grasos como en el comportamiento. Por esta razón no se incluye dentro de los resultados.

El procedimiento establecido fue recoger orina de cada paciente, la cual se empapó una tira de papel Whatman 903 y se dejó secar al aire. Una vez seca, se introdujo en una bolsa estéril y se remitió al laboratorio para su análisis.

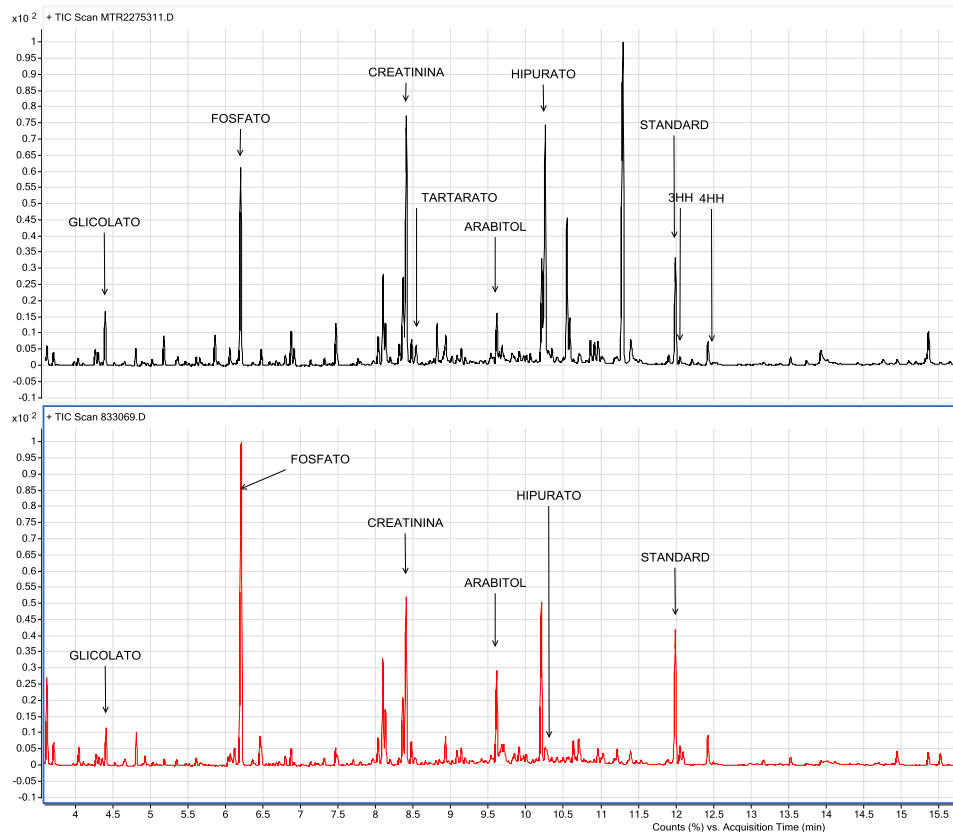
Cada muestra fue analizada mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS) siguiendo un protocolo basado en el método descrito por Matsumoto y Kuhara (1996) en un equipo Agilent 5977A Series GC/MSD System.

Como resultado de su estudio, de cada muestra analizada se obtuvo un perfil de ácidos orgánicos en el que se incluyen distintos patrones de referencia para su análisis semi-cuantitativo (15).

## **5. RESULTADOS**

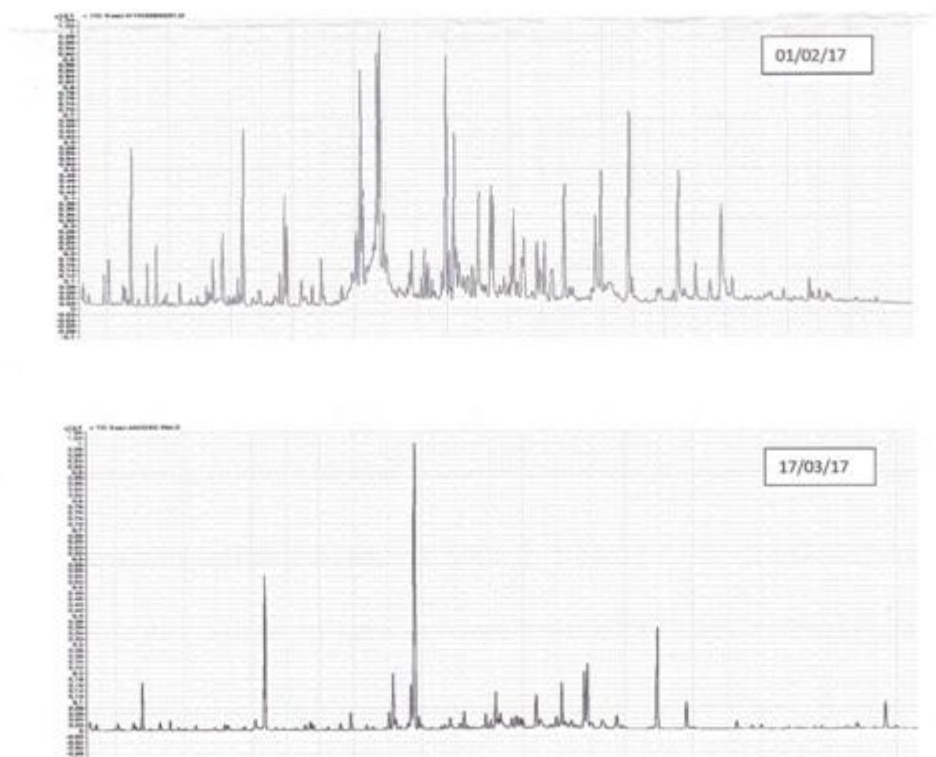
Paciente 1: varón de trece años de edad con trastorno de la conducta tipo Trastorno del Espectro Autista (TEA). En el primer cribado metabólico realizado existe una excreción aumentada de ácido glicólico, arabitol e hipurato, así como presencia de ácido 3-(3-Hidroxifenil)-3-hidroxiopropiónico (HPPHA) y ácido tartárico. El perfil reflejado se relaciona de manera consistente con trastornos conductuales (TEA, psicosis y ansiedad entre otros) asociados a diversas manifestaciones intestinales (diarrea intermitente, dispepsia). Ante esta situación, se propone un tratamiento con vancomicina oral durante al menos dos semanas. Una vez concluido el mismo, en el segundo perfil metabólico se puede observar que en comparación con la muestra anterior, hay un aumento de la excreción de arabitol, así como una persistencia en la presencia de glicolato. Los niveles de hipurato y

HPHPA se encuentran disminuidos y no se detecta excreción de 3 hidroxihipurato (3HH) ni 4 hidroxihipurato (4HH) (Ilustración 1). En relación con el comportamiento, el cambio de conducta en el paciente es significativo, mostrándose más alegre y comunicativo.



**Ilustración 1. Paciente 1: Perfil de Cribado Metabólico antes y después del tratamiento**

Paciente 2: varón de catorce años de edad con trastorno de conducta tipo Trastorno Obsesivo Compulsivo (TOC) y antecedentes de hígado graso. Se descartan enfermedades metabólicas primarias, incluida porfiria aguda intermitente. No obstante, se detecta una excreción aumentada de glicolato y arabitol y niveles detectables de HPHPA. Este perfil es característico de personas con sobrecrecimiento bacteriano (*Clostridium*) y un aumento de la permeabilidad. Dado que HPHPA se relaciona con graves alteraciones neurológicas y desajuste de catecolaminas cerebrales, se pautó un tratamiento con vancomicina oral durante dos semanas. Tras el tratamiento se detectó una excreción disminuida de glicolato y arabitol con respecto a la muestra recogida anteriormente. Tampoco se detectó excreción de HPHPA (Ilustración 2). En relación a los cambios de comportamiento observables, se aprecia una mejoría en su conducta.



**Ilustración 2. Paciente 2. Perfil de cribado metabólico antes y después del tratamiento**

El ácido 3-(3-hidroxifenil)-3-hidroxi propiónico (HPHPA) es el producto metabólico de la m-tirosina (3-hidroxifenilalanina) (3HPA), un análogo de la tirosina asociado a la aparición de síntomas de autismo como el comportamiento estereotípico, la hiperactividad y la hiperreactividad al inducir al vaciamiento y agotamiento de las catecolaminas en el cerebro (16). Se ha demostrado la presencia de niveles elevados en orina de HPHPA en pacientes con trastornos de la conducta como autismo, hiperactividad por déficit de atención, psicosis infantil, trastornos obsesivo-compulsivos, trastornos TIC y depresión en adultos, así como en esquizofrenia (17).

Xiong et al (2016) realizó un estudio con niños con TEA, los cuáles presentaban niveles de HPHPA significativamente elevados, además de niveles 3HPA y ácido 3-hidroxihipúrico (3HHA) elevados también en algunos de ellos. Tras un tratamiento con vancomicina y *Bifidobacterium*, los niveles de HPHPA, 3HPA y 3HHA descendieron significativamente. También mostraron mejor comunicación y contacto visual, pero no se observó una mejora obvia en el comportamiento estereotipado. Además, todos los sujetos del estudio que padecían estreñimiento mejoraron. Xiong et al dedujeron que estos compuestos pueden ser debidos a un

sobrecrecimiento de la microbiota, aunque la patogénesis de los TEA no sólo es debida a este sobrecrecimiento (18).

Estos compuestos pueden proceder del metabolismo de la fenilalanina que una vez metabolizado a m-tirosina, conduce a comportamientos anormales en ratas de experimentación. Está documentado que *Escherichia coli* podría inducir las actividades de amina oxidasa (MaoA) y fenilacetaldehído deshidrogenasa (PadA) para el catabolismo de aminas aromáticas (metabolismo de m-tirosina en m-tiramina y ácido 3-hidroxifenilpropiónico) (17, 18).

Un aumento en las cantidades de HPHPA en muestras de orina medidas es indicativo de la presencia y cantidad de bacterias anaerobias del género *Clostridium* en el tracto gastrointestinal (16).

En el caso del ácido tartárico también se ha sugerido una fuerte conexión entre éste y niños autistas (14).

El arabitol, metabolito de la mayoría de las especies *Candida* patógenas, muestra niveles más elevados en pacientes autistas (14). Este metabolito está relacionado causalmente con la enfermedad a través de la inhibición de la actividad del ciclo de Krebs mitocondrial y/ o por la interferencia en el metabolismo de los carbohidratos debido a sus altas concentraciones en estos pacientes (16).

## **6. DISCUSIÓN**

### **6.1 Microbiota y Trastorno del Espectro Autista**

El Trastorno del Espectro Autista (TEA) es un grupo heterogéneo de trastornos del desarrollo neurológico con evidencia de predisposición genética (19) en la infancia temprana (20) que afecta la interacción social, la comunicación verbal y no verbal y el comportamiento (1).

El TEA es uno de los trastornos del desarrollo neurológico de más rápido crecimiento en el mundo industrializado y se ha relacionado con varios desencadenantes ambientales, como la exposición pre o postnatal a sustancias químicas y medicamentos, la contaminación atmosférica, el estrés, la infección materna y los factores dietéticos (19).

Los problemas gastrointestinales se dan en más de la mitad de los pacientes con TEA, entre los que se incluyen molestias abdominales, estreñimiento, diarrea, náuseas y flatulencias (21). Además la permeabilidad intestinal se encuentra aumentada en estos pacientes en comparación con sujetos sanos (19).

Por otra parte, la irritabilidad y agresividad, común en estos pacientes puede ser consecuencia de las molestias gastrointestinales, entendiéndolas como una manera de expresión de las mismas. Asimismo, se puede plantear la hipótesis de que la ansiedad e irritabilidad pueden contribuir a la frecuencia e intensidad de dichos trastornos (20).

Hay diversas hipótesis que tratan de explicar la causa de esta prevalencia (1):

- Inflamación
- Enfermedad intestinal funcional
- Exposición a antibióticos durante la infancia: la mayoría de los niños con TEA tienen antecedentes de infección antes de los 2 años. La frecuencia del uso de estos medicamentos también es significativamente mayor que la de los niños desarrollados normalmente. Los antibióticos destruyen el equilibrio fisiológico de la flora intestinal inherente, y se produce una colonización de microorganismos que colonizan más rápidamente y que producen neurotoxinas, induciendo así diarrea crónica y TEA. Por ejemplo, un aumento anormal de *Clostridium* y *Bacteroidetes* en el intestino puede promover los síntomas gastrointestinales y comportamientos relacionados con TEA. A consecuencia, tanto el desequilibrio de la microbiota como la entrada de cantidades excesivas de metabolitos bacterianos en el cerebro a través de la circulación están asociados con el inicio de la TEA (8). En la mayoría de los casos, los síntomas del autismo comienzan en la primera infancia. Sin embargo, un subconjunto de niños parece desarrollarse normalmente hasta que se observa un claro deterioro. Muchos padres de niños con autismo "regresivo" han notado antecedentes de exposición a antibióticos seguida de diarrea crónica. Se especuló que, en un subgrupo de niños, la interrupción de la flora intestinal inherente podría promover la colonización por una o más bacterias productoras de neurotoxinas, contribuyendo al menos en parte a su sintomatología autista (18,22).

La microbiota en niños con TEA es diferente de la de los niños sin esta enfermedad (1). Asimismo, se han observado niveles alterados de metabolitos bacterianos derivados de la fermentación bacteriana de componentes alimentarios no digeribles, concretamente los ácidos grasos de cadena corta como el ácido butírico, acético y valérico, siendo significativamente mayores en niños con TEA. También se demostró que los subproductos de la fermentación de proteínas



microbianas, como el amoníaco y los aminoácidos libres, aumentaban en los niños con TEA (19,23).

La colonización anormal podría estar relacionada con diversos factores, incluyendo una dieta más restringida y permisiva y a la exposición elevada de antibióticos en edades más tempranas.

Cuando se compararon niños autistas con controles, se observaron cambios en el filo *Firmicutes* (63% vs 39%, respectivamente), *Bacteroidetes* (30% vs 51%), *Actinobacteria* (0,7% vs 1,8%) y *Proteobacteria* (0,5% frente a 3,1%). Este mismo grupo también informó la presencia de anaerobios no esporófitos y bacterias microaerófilas en aspirados gástricos y duodenales de niños con autismo, organismos que no estaban presentes en niños control (1).

Se ha descrito una comunidad microbiana menos diversa en el intestino de niños con autismo con niveles inferiores de algunos géneros (*Prevotella*, *Coprococcus* y *Veillonellaceae*) (1).

Otras diferencias en los individuos con TEA incluyen el crecimiento excesivo de especies de *Clostridium*, y bajos niveles de *Bifidobacterium* (1,3), especie que posee efectos antiinflamatorios (1).

Cabe señalar que la gran mayoría de las especies de *Bacteroidetes* producen ácido propiónico y otros ácidos grasos de cadena corta como productos finales de su metabolismo y cuando estos se inyectan en el cerebro de ratas, estas muestran cambios biológicos, químicos y patológicos característicos del autismo (3).

El *Desulfovibrio* es particularmente interesante, ya que las tres especies de este género que se encontraron presentaron porcentajes significativamente mayores de la flora total de las heces de niños gravemente autistas que en los controles. Además, este género reductor de sulfato se ha reportado en infecciones graves como la bacteriemia. Este género produce sulfuro de hidrógeno, un importante factor de virulencia que es conocido por corroer varios metales (hierro, mercurio, molibdeno, etc) (3). Además, aunque no es un organismo formador de esporas, el *Desulfovibrio* es muy resistente a influencias deletéreas, por lo que es posible que desempeñe algún papel en la recurrencia de los síntomas autistas después del tratamiento. No obstante, esto debe ser probado en futuras investigaciones (24).

También se ha planteado la hipótesis de que las especies de *Clostridium* estén asociadas con la sintomatología autista y su propiedad de formación de

esporas resulta relevante en la recurrencia de síntomas autistas después de obtener una buena respuesta a la vancomicina oral (22).

## **6.2 Microbiota y Trastorno obsesivo-compulsivo**

El trastorno obsesivo-compulsivo (TOC) se trata de una patología de carácter crónico en el que las personas tienen pensamientos, ideas, sentimientos obsesivos y comportamientos o rituales repetitivos e indeseables que les incita a hacer algo un número indefinido de veces (compulsiones) (25).

No se conoce la causa exacta del trastorno obsesivo compulsivo. Los factores que pueden determinar su desarrollo incluyen lesiones en la cabeza, infecciones y funcionamiento anormal en ciertas áreas del cerebro (25).

El estrés ambiental parece desempeñar un papel importante en TOC, pudiendo ser la causa de la misma, o predisponiendo a su sintomatología. Tanto el estrés ambiental como el dietético son capaces de alterar la microbiota intestinal en ratones, disminuyendo la abundancia relativa del género *Bacteroides* y aumentando la de *Clostridium* (26).

Si la génesis de una condición de susceptibilidad a TOC se encuentra en un estado disfuncional de la microflora intestinal, se pueden encontrar remedios en la reintroducción de una bacteria beneficiosa, como en la administración de probióticos. Las cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* producen GABA, molécula inhibidora del sistema nervioso. Además, la administración oral de *Bifidobacterium infantis* es capaz de aumentar los niveles de triptófano, precursor de la serotonina, pudiendo modular la evolución de la enfermedad a un estado más tolerable (26).

A continuación, en la Tabla 1 se resumen los últimos estudios realizados en estos tipos de pacientes intervenidos con el objetivo general de modificar la microbiota.

**Tabla 1. Estudios en pacientes con trastornos del comportamiento.**

Estudio	Metodología	Resultados
<b>Kaluzna-Czaplinska and Blaszczyk, (2012) (13)</b>	Análisis de ácidos orgánicos en orina de 22 niños autistas sometidos a una dieta sin azúcar y suplementación probiótica ( <i>L. acidophilus</i> ) durante dos meses	D-arabinitol disminuyó significativamente tras el tratamiento. Se observó mejoría en la capacidad de concentración y ejecución de pedidos pero no en el contacto visual y el comportamiento frente emociones ajenas.
<b>West R (2013) (27)</b>	A 33 pacienes con TEA se les administró $10 \times 10^{10}$ CFU de <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. delbruecki</i> , <i>B. longum</i> y <i>B. bifidum</i> y 8 mg de liofilizado (peptidoglicano, péptidos de muramilo, y nucleótidos derivados de la cepa <i>L. rhamnosus</i> V durante 6 meses	Mejoría significativa de síntomas GI y en los dominios ATEC (Lista de Control para la Evaluación de Tratamientos de Autismo)
<b>Turna J et al, (2015) (10)</b>	Administración de <i>L. rhamnosus</i> durante 2 semanas en ratones con TOC	Atenuación de los comportamientos típicos de esta enfermedad comparable con la respuesta a fluoxetina
<b>Tomova et al (2015) (28)</b>	Estudio de la microbiota fecal mediante PCR a tiempo real de 10 niños con TEA, 9 hermanos y 10 niños sanos. Intervención mediante suplementación probiótica durante 4 meses ( <i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacteria</i> y <i>Streptococcus</i> )	En niños autistas, se observó una disminución significativa de <i>Bacteroidetes/ Firmicutes</i> y aumento de <i>Lactobacillus</i> y <i>Desulfovibrio</i> . Tras el tratamiento probiótico se normalizó la relación <i>Bacteroidetes/ Firmicutes</i> y <i>Desulfovibrio</i> .
<b>Grossi et al, (2016) (29)</b>	Administración probiótica ( <i>B. breve</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. infantis</i> <i>L. acidophilus</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. paracasei</i> <i>L. Bulgaricus</i> , <i>L. delbrueckii subsp S. thermophilus</i> , <i>S. salivarius</i> ) durante 4 meses	Se redujo la gravedad de los síntomas gastrointestinales y del comportamiento autista medida a través de puntuación ADOS-2 (Escala de Observación para el Diagnóstico del Autismo). Anteriormente el paciente no había mostrado cambios en años.

### 6.3 Antibióticos

Los antibióticos son los fármacos más antiguos utilizados en el tratamiento de enfermedades del tracto gastrointestinal. Su uso, indicado en enfermedades infecciosas, puede lograr una alteración de la composición de la microbiota intestinal que puede conducir a efectos secundarios significativos. A pesar de ello, la terapia con antibióticos actualmente se fomenta en el manejo de trastornos en los que la modulación de la flora intestinal conduce a una mejora clínica neta.

La reducción y diversidad de la microbiota intestinal influye en los comportamientos de los adultos y en los neuromoduladores clave del eje intestinal-cerebral: reduce la ansiedad, induce déficits cognitivos, modifica la expresión hormonal cerebral y altera la dinámica de la vía metabólica del triptófano (31).

Es posible especular que el tratamiento con antibióticos, a través de la modulación de la microbiota intestinal, debe ser capaz de influir en los síntomas y la expresión de trastornos psiquiátricos (31).

En nuestro caso, la vancomicina es un antibiótico muy útil, ya que se dirige ampliamente a bacterias Gram-positivas, incluyendo bacterias anaerobias Gram-positivas como algunos miembros del género *Clostridium*. Además, tiene un perfil de seguridad favorable cuando se administra oralmente, ya que, en circunstancias fisiológicas normales, la vancomicina no se absorbe en el intestino, por lo que no pasa a la circulación sanguínea. El metronidazol también se dirige a bacterias Gram-positivas, pero como se absorbe sistemáticamente, se considera que tiene un perfil de seguridad menos favorable debido a la posibilidad de efectos adversos sistémicos (32).

Un estudio realizado por Sandler et al en el que se incluyó 11 niños con trastorno de espectro autista de inicio regresivo (con antecedentes de antibióticos de amplio espectro) se les administró vancomicina, durante 8 semanas y una administración posterior de probióticos que incluía *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus Bulgaricus*, y *Bifidobacterium bifidum*. Los participantes mejoraron significativamente durante la administración del antibiótico, pero esta mejora no fue duradera ya que se reportó un empeoramiento progresivo, ya que muchos de ellos admitieron que el cumplimiento del tratamiento con probióticos fue muy pobre (22).

La evidencia de la efectividad de estos tratamientos para mejorar los síntomas de TEA es muy limitada. Esto pone de relieve la necesidad de ensayos clínicos bien controlados. Varios desafíos se observaron en esta área de investigación de tratamiento. En primer lugar, puede haber subgrupos de niños con TEA que respondan positivamente o negativamente a estas intervenciones. En segundo lugar, la resistencia a los antibióticos es un problema de salud importante, por lo que su uso repetido hace problemática la seguridad a largo plazo con estos agentes, tanto para el paciente como para el hospital, las clínicas y la población en general (32).

La recaída en sujetos autistas después de la interrupción de un agente apropiado tal como la vancomicina oral se debe a la presencia de esporas (que no se eliminan por la acción de antibióticos) y que posteriormente germinan de nuevo. La recaída durante la terapia podría sugerir que los organismos responsables han adquirido resistencia al antibiótico (no común con *Clostridium*) o que otros *Clostridium* ya resistentes han tomado el control. La tipificación de las cepas *Clostridium* implicadas de la "infección" original y después de la recaída, por PFGE u otros métodos de tipificación, ayudaría a establecer este mecanismo (33).

#### **6.4 Probióticos**

Hay varias limitaciones de los probióticos comerciales que deben ser observados. En primer lugar, contienen sólo una pequeña fracción del total de bacterias en el intestino y las bacterias que contienen son limitadas en diversidad en comparación con el amplio número y tipos de bacterias en el intestino humano. Por ejemplo, el intestino humano contiene más de 1.000 diferentes cepas de bacterias, mientras que los probióticos comerciales normalmente contienen menos de 10 cepas de bacterias. En segundo lugar, rara vez contienen anaerobios obligatorios que constituyen un porcentaje significativo de la microbiota normal. En tercer lugar, como la mayoría derivan de la leche, el tracto gastrointestinal humano no es un medio natural para estos organismos (32). Asimismo, destacar que los probióticos comerciales varían considerablemente en su calidad, composición y eficacia entre ellos.

Otro inconveniente es la falta de estandarización, regulación y control de calidad de estos suplementos de venta libre, que puede derivar en publicidad excesiva y reclamo como producto milagroso (34).

Otro de los aspectos a tener en cuenta es su seguridad. Se ha demostrado que los probióticos son seguros en la mayoría de las poblaciones de pacientes y causan pocas interacciones farmacológicas (34). No obstante, en poblaciones enfermas o inmunocomprometidas se requiere una evaluación específica de la seguridad para cada una de las cepas en cada población concreta. La vigilancia de las reacciones adversas derivadas del uso de probióticos es necesaria para establecer el perfil de seguridad de estos agentes cuando se usan en otras poblaciones que no sean sanos (35).

### **Esporas de *Clostridium***

El género *Clostridium* parece estar presente en el intestino de individuos con TEA, los *Clostridium* son reconocidos como productores de neurotoxinas, que en el caso de los individuos autistas puede estar sobreexpresado. Las principales diferencias observadas entre los pacientes con TEA y los grupos control sanos, en un estudio realizado por Parracho et al, fueron los niveles del grupo de *C. histolyticum*, que constituía la población bacteriana numéricamente predominante en las muestras de los pacientes enfermos. Estos resultados apoyan la hipótesis de una asociación entre *Clostridium* y el desarrollo de ciertas características autistas (36). La modulación de la microbiota intestinal mediante la reducción del número de ciertos *Clostridium* en pacientes con TEA, mientras que se estimulan las bacterias intestinales más beneficiosas, pueden ayudar a aliviar algunos de los síntomas relacionados (36).

En los casos de infección por *C. difficile*, aproximadamente la mitad de las recurrencias se deben a recaídas, mientras que la otra mitad se debe a una reinfección. Una recaída implica la misma cepa de *C. difficile* que la infección original y ocurre cuando sus esporas permanecen en el intestino después del tratamiento con antibióticos. Estas esporas pueden proliferar fácilmente y comenzar a producir toxinas de nuevo, ya que la flora normal del intestino no se restablece durante aproximadamente tres meses (34).

Si el problema de la recurrencia de la recolonización por parte de *Clostridium* radica en las esporas que la vancomicina no es capaz de eliminar. La estrategia se centraría en evaluar un método que consiguiese su total eliminación o al menos evitase su propagación. En este sentido, se han realizado numerosos estudios con el objetivo de analizar el papel que puede desempeñar el uso de probióticos en dicha estrategia.

En un estudio realizado por Rätsep M et al (2017) se evaluó la eficacia de la cepa *Lactobacillus plantarum* junto con el prebiótico xilitol, de manera simbiótica sobre cepas de *Clostridium difficile*, con el fin de evaluar su potencial acción de supresión del crecimiento de la misma (37). Esta cepa microbiana ya ha demostrado eficacia contra las esporas de *Clostridium* en la elaboración y maduración de quesos (38). Para ello se evaluó tanto in vitro como in vivo la susceptibilidad de las cepas de *C. difficile* a efectos antagonistas del probiótico *L. plantarum*, del prebiótico xilitol (Xyl) y su combinación como producto simbiótico. Como resultados, se obtuvo que los hámsters pre-alimentados durante cinco días con la cepa probiótica antagonistamente activa *L. plantarum* en combinación con xilitol podía prevenir la infección de *C. difficile*. La administración del producto definido como simbiótico se repitió a través del experimento con animales y como resultado no dejó que las esporas de *C. difficile* germinaran en células vegetativas tóxicas y colonizaran el intestino. (37)

Por otro lado, se ha observado que los suplementos de Carvacrol (fenol monoterpeneoide extraído del orégano) redujeron significativamente la incidencia de diarrea y mitigaron la gravedad de los síntomas clínicos inducidos por *C. difficile*, induciendo un cambio favorable en la composición de la microbiota intestinal sin afectar negativamente la diversidad del microbiota intestinal en ratones (39).

En otro estudio se demostró que el *Bacteroides fragilis*, bacteria de la microbiota normal, inhibe la esporulación de *C. perfringens* alterando el entorno del cultivo. El *B. fragilis* produce una serie de ácidos grasos de cadena corta, incluyendo acetato, isobutirato, isovalerato y succinato que se ha demostrado que limitan la producción de esporas en cultivo (40).

Algunos probióticos (específicamente *Lactobacillum* y *Bifidobacterium*) han demostrado causar un fenómeno conocido como "resistencia a la colonización", en el que el crecimiento de *C. difficile* se inhibe mediante la producción de antimicrobianos y ácidos para disminuir el pH del intestino. Los probióticos también protegen el epitelio como resultado del aumento de la producción de mucina en el colon, y pueden causar una mayor absorción de agua a través de canales de cloruro para reducir la diarrea. Los probióticos también tienen efectos inmunológicos, disminuyendo la inflamación o aumentando la expresión de las inmunoglobulinas frente a la toxina de *C. difficile* (34).

Por otra parte, se ha demostrado que algunos probióticos (específicamente *Saccharomyces boulardii*) previenen que las toxinas de *C. difficile* se unan en el intestino (34).

Estos estudios podrían ser extrapolables a los casos de TEA (41). Previene de esta manera la repoblación por bacterias patógenas del intestino una vez que este ha sido tratado.

Ante la evidencia de estos estudios cabría la posibilidad de diseñar un probiótico específico para evitar la recolonización de las especies *Clostridium*. Esta bacteria no es la única cepa susceptible de causar alteraciones del comportamiento en niños autistas. Sería necesario evaluar la capacidad de estos probióticos para evitar la recolonización pero de todo un patrón de microbiota.

## 6.5 Transplante microbiota fecal

El trasplante de microbiota fecal (FMT) es una intervención en la que la microbiota fecal de un individuo sano se traspa a un paciente con una microbiota intestinal disbiótica. El FMT se remonta a la China del siglo IV, cuando un médico de medicina tradicional china describió una suspensión fecal humana oral que curó eficazmente la intoxicación alimentaria y la diarrea severa. Es altamente eficaz en el tratamiento de infecciones recurrentes por *Clostridium difficile* (42). Los FMT proporcionan una dosis muy alta de bacterias al intestino. Su mecanismo de acción sigue siendo desconocido, y su éxito puede deberse a un conjunto de factores incluyendo la microbiota y/o los metabolitos presentes en la muestra de los donantes (43). Basándose en la especulación de que el FMT puede normalizar la microbiota intestinal en pacientes con síndrome de colon irritable, cabe esperar que se pueda considerar tratamiento para niños con TEA u otros trastornos del comportamiento (42).

El proceso del FMT es relativamente simple. Los donantes deben estar sanos y exentos de cualquier enfermedad potencialmente transmisible a través de las bacterias intestinales. Las heces donadas se mezclan con una solución salina estéril en glicerol y se pueden administrar frescas o congeladas. Las heces congeladas a -80 ° C son viables y eficaces durante al menos seis a nueve meses. Las heces de donante se pueden administrar vía tubo naso-yeyunal o en el ciego en la colonoscopia. En general, el procedimiento es seguro; los eventos adversos comunes incluyen hinchazón, diarrea y fiebre de bajo grado, que tienden a asentarse dentro de las 48 horas. Los eventos graves relacionados con el



procedimiento endoscópico, como la perforación intestinal y la aspiración, son raros (5).

Las FMT no constituyen un probiótico, ya que el material donante no es reproducible y definido. No obstante, la transferencia de estos organismos en su estado metabólico activo e interconectado es mucho más eficaz que un probiótico seco o en forma de alimento cuyas cepas no han demostrado colonizar el tracto gastrointestinal durante un período prolongado de tiempo (43).

Sin embargo, debido a que el trasplante fecal no es una terapia de primera línea, no existen datos sobre su eficacia sin antibióticos. Se necesitan más estudios para comprender los procesos y los taxones microbianos que permiten establecer una microbiota saludable en los receptores de trasplante fecal. Estos estudios permitirán el desarrollo de una forma estandarizada de formular y analizar la muestra de donante, el diseño y la interpretación de los estudios de dosificación y el análisis de la seguridad a corto y largo plazo (44).

Kang et al realizó un ensayo clínico abierto que incluyó a 18 niños con TEA (edades 7-16 años) que fueron diagnosticados por el Diagnóstico de Autismo Revisado (ADI-R) y tenían problemas gastrointestinales moderados a graves (12). Cada niño participó en el estudio durante 18 semanas en total, que consistía en un tratamiento de FMT de 10 semanas y un período de observación de seguimiento de 8 semanas posterior al tratamiento. Como grupo de control, se reclutaron 20 niños neurotípicos sin trastornos gastrointestinales, que no fueron tratados pero sí monitorizados durante 18 semanas. El tratamiento se resume en, además de la administración oral y rectal del trasplante de microbiota, en una administración previa de vancomicina durante 15 días, un tratamiento inhibidor de la bomba de protones y una limpieza intestinal que consistía en un día de ayuno y una bebida específicamente diseñada para este fin. Los hallazgos obtenidos en el estudio sugieren que el FMT es seguro y bien tolerado en niños con TEA de edades entre 7-16 años. Este tratamiento condujo a mejoras significativas en los síntomas relacionados con el tracto gastrointestinal y comportamiento, habilidades sociales, irritabilidad, hiperactividad, letargo, esterotipia y habla aberrante. Dichas mejoras se mantuvieron al menos 8 semanas después del tratamiento. El cambio de la microbiota intestinal de los niños con TEA hacia la de los niños neurotípicos es coherente con la hipótesis de que la microbiota intestinal puede ser al menos parcialmente responsable de los síntomas gastrointestinales y TEA (12).

## 6.6 Prebióticos

Se definen como ingredientes fermentados selectivamente que producen cambios específicos en la composición y/o actividad de la microbiota gastrointestinal, lo que confiere beneficios a la salud del huésped (45).

Los carbohidratos no absorbidos / no digeridos en el intestino delgado son fermentados por la microbiota intestinal en el intestino grueso, produciendo sus principales productos finales, ácidos grasos de cadena corta (SCFAs) y ácido láctico, que pueden tener efectos múltiples, incluyendo la modulación de secreción enteroendocrina de serotonina (45).

Los fructo-oligosacáridos (FOS) y galacto-oligosacáridos (GOS) son fibras solubles utilizadas extensivamente como prebióticos que tradicionalmente se asocian con la estimulación de bacterias beneficiosas, como *Bifidum* y *Lactobacillum*. Se ha demostrado previamente en ratones que la sialilactosa prebiótica es capaz de disminuir las alteraciones inducidas por el estrés en la estructura de la comunidad microbiana asociada a la mucosa colónica, el comportamiento ansioso y el número de células neuronales inmaduras, independientemente de la funcionalidad inmune o endocrina. En un contexto clínico, los sujetos humanos suplementados con GOS presentaron una supresión de la respuesta al estrés neuroendocrino y un aumento en el procesamiento de la vigilancia atencional positiva frente a la negativa, mostrando un perfil ansiolítico temprano (45).

En un estudio en modelo de ratones, la administración prebiótica tuvo un efecto marcado en la reducción de los niveles de corticosterona plasmática inducida por el estrés, siendo la combinación de la administración de FOS + GOS la más potente. Los prebióticos (FOS y GOS) aumentaron la expresión de la subunidad de BDNF y NR1 del hipocampo, pero no alteraron los aminoácidos asociados con la neurotransmisión de glutamato en comparación con los controles. La ingesta de GOS también aumentó las subunidades del NR2A del hipocampo, la corteza frontal NR1 y el péptido plasmático YY (PYY). Esto sugiere que el efecto mediado por los prebióticos de la microbiota intestinal sobre el cerebro es similar al de los probióticos (46). Además los prebióticos están exentos del problema asociado a la supervivencia en el tracto gastrointestinal que presentan los probióticos. Asimismo, los prebióticos resultan beneficiosos para una amplia serie de especies simultáneamente, lo que contribuye a la acción sinérgica de las mismas (46).

## 6.7 Alimentación y estabilidad

Estudios han demostrado que un incremento del consumo de frutas y verduras provoca un cambio en la microbiota con un aumento de las cepas *Clostridium Leptum* - *Rominococcus bromii / flavefaciens*, *Bifidobacterium* y de *Bacteroides / Prevotella* (47).

Además, dietas con un alto contenido de azúcar y grasas contribuye a disbiosis, y a una menor producción de ácidos grasos de cadena corta a partir de fermentación de la fibra, que tienen un papel anti-inflamatorio. Una dieta alta en grasas promueve la inflamación mediante el aumento de la expresión de TNF- $\alpha$  e IL-6, citocinas relacionadas con la inflamación y la infiltración de macrófagos. Por otra parte, los estudios epidemiológicos han demostrado que la obesidad central y el índice de masa corporal son predictores de la depresión, la ansiedad y una baja calidad de vida (7).

Estudios que evalúan la estabilidad de la microbiota han descubierto que (44,48):

- La estabilidad es directamente proporcional a la abundancia dentro de un determinado taxón. Esto quiere decir que cuanto más abundante sea una cepa, más resistente a los cambios será.
- La variabilidad temporal es mayor en niños que en adultos sanos.
- La estabilidad es mayor en individuos sanos en comparación con los enfermos.
- La microbiota infantil es relativamente volátil.

Un estudio realizado en niños sanos de Países Bajos demostró que el filo *Bacteroidetes* es el más estable, seguido de *Proteobacterium* y *Firmicutes*, *Actinobacterium*, *Fusobacterium* y *Verrucomicrobia* (49). La microbiota sufrió pequeñas variaciones durante 18 meses pero se mantiene estable en un 70% de su totalidad. La diversidad y la estabilidad se perpetúan con la edad (resultado no estadísticamente significativo). Concluyeron que la estabilidad es una característica individual que varía por filo.

Los cambios estacionales en la composición de microbiota fueron estadísticamente significativos en un estudio realizado en una población única, con un estilo de vida comunal que minimizaba los cambios ambientales. Aunque con el cambio de estación se producen muchas modificaciones que pueden influir en la dieta: las horas de luz, la cantidad de ejercicio físico etc, la variante más importante es la modificación de la dieta. (50).

Dentro de las estrategias de modificación de la microbiota, los cambios en la dieta es la opción más accesible aunque no siempre la más fácil, debido a la educación alimentaria y a la predisposición familiar. Estudios han demostrado que variaciones en la dieta sostenida en el tiempo, puede modificar la microbiota y hacer más predominante un determinado filo que otro. Por ejemplo, una dieta alta en proteína y grasas animales se asocia con *Bacteroides* mientras que una dieta alta en carbohidratos está asociada a *Prevotella*. Los filo positivamente asociados con la grasa, pero negativamente asociados con la fibra fueron predominantemente *Bacteroidetes* y *Actinobacteria*, mientras que *Firmicutes* y *Proteobacteria* muestran la asociación opuesta (51).

En los adultos estadounidenses sanos, *Bacteroides* se asoció con una dieta a largo plazo rica en proteína animal, varios aminoácidos y grasas saturadas (prevalente en los EE.UU. y Europa), mientras que *Prevotella* se asoció con carbohidratos y azúcares simples (prevalente en las sociedades agrarias) (44).

La estabilidad temporal puede estar relacionada con el concepto de que existen estados de equilibrio estables para la microbiota, en los cuales las perturbaciones, la estocasticidad y la dinámica temporal de los microbios individuales producen cambios, pero la comunidad sigue atraída hacia un atractor central (44).

Con el uso de antibióticos se produce un aumento significativo de los genes de resistencia a los antibióticos que persisten durante años, lo que sugiere que el estado posterior a la perturbación probablemente sería cada vez más resistente frente a la misma alteración porque una mayor proporción de la microbiota sería resistente (44).

Los estados estables de la microbiota y sus implicaciones para la resiliencia es una dirección importante de la investigación. La evidencia actual sugiere que pequeñas perturbaciones, tales como cambios dietéticos a corto plazo, pueden permitir un retorno al mismo estado, pero perturbaciones mayores, como la administración de antibióticos, pueden causar el movimiento a un estado diferente. Aún no se conocen bien las implicaciones a largo plazo de estos cambios para la salud. Además, la perturbación del equilibrio estable de la microbiota intestinal a través de cambios a largo plazo, como la inflamación, la dieta o la administración repetida de antibióticos, podría hacer que nuevos estados sean alcanzables incluso con perturbaciones más pequeñas. En consecuencia, tanto el panorama general

como el estado actual de la comunidad pueden ser importantes para determinar las respuestas individuales a una intervención dada (44).

## 7. CONCLUSIONES

Existen evidencias de la enorme influencia que ejerce la microbiota sobre el comportamiento humano.

La microbiota intestinal puede ser estudiada mediante aproximaciones genómicas, microbiológicas o metabólicas, analizando los co-metabolitos generados por la misma.

Existen diferentes estrategias capaces de modificar la microbiota intestinal, que pasan por el uso de antibióticos, pre- y pro-bióticos, cambios en la dieta y trasplante fecal.

Cambios en la microbiota pueden resultar de utilidad clínica en las intervenciones sobre conducta en pacientes con TEA.

De acuerdo a la revisión bibliográfica proponemos intervenciones sinérgicas para conseguir cambios significativos en la microbiota. En situaciones patológicas parece recomendable utilizar secuencialmente antibióticos para anular la microbiota anómala, seguida de probióticos para instaurar una que sea adecuada. Sería recomendable un seguimiento y evolución periódicos, ya que estos pacientes suelen volver al punto de inicio.

No existe ningún protocolo de seguimiento establecido, teniendo en cuenta que la microbiota es muy susceptible a los cambios en la dieta y los estudios evaluados muestran un seguimiento menor al de 12 meses. Sería útil una evaluación cada 3-4 meses, con cada cambio de estación, en el que se utilizaría el tratamiento probiótico para evitar otro desequilibrio de la misma.

Otra posibilidad de intervención sería atacar las esporas de los diferentes microbios indeseados de la misma manera que se ataca al *Clostridium*, no obstante esta área todavía requiere más investigación.

Es importante recalcar, que en todos los casos, la implicación de la familia es crucial a la hora de conseguir una mejoría en estos niños. Las familias son los que deben encauzar el tratamiento y mantenerlo mediante una dieta rica en fibra y prebióticos y baja en azúcares refinados y grasas saturadas. Si este aspecto de la

intervención no se aborda, resulta verdaderamente complicado mantener estables los cambios en la microbiota producidos por el tratamiento antibiótico.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Navarro F, Liu Y, Rhoads JM. Can probiotics benefit children with autism spectrum disorders? *World J Gastroenterol*. 2016;22:10093.
2. Latalova K, Hajda M, Prasko J. Can gut microbes play a role in mental disorders and their treatment?. *Psychiatr Danub*. 2017;29:28-30.
3. Finegold SM, Dowd SE, Gontcharova V, Liu C, Henley KE., Wolcott RD. et al. Pyrosequencing study of fecal microflora of autistic and control children. *Anaerobe*. 2010;16:444-453.
4. Sidhu M, van der Poorten D. The gut microbiome. *Aust Fam Physician*. 2017;46:206-211.
5. Nova E, Marcos A. Papel de los probióticos en diferentes etapas de la vida. Grupo Inmunonutrición. Dpto. de Metabolismo y Nutrición. Instituto del Frío. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid
6. Panduro A, Rivera-Iñiguez I, Sepulveda-Villegas M, Sonia Roman S. Genes, emotions and gut microbiota: The next frontier for the gastroenterologist. *World J Gastroenterol*. 2017;23:3030-3042.
7. Coretti L, Cristiano C, Florio E, Scala G, Lama A, Keller S et al. Sex-related alterations of gut microbiota composition in the BTBR mouse model of autism spectrum disorder. *Scientific Reports*. 2017;7:45356.
8. Lyte M. Microbial endocrinology in the microbiome-gut-brain axis: how bacterial production and utilization of neurochemicals influence behavior. *PLoS Pathog*. 2013;9:e1003726.
9. Turna J, Grosman Kaplan K, Anglin R, Ameringen M. "What's bugging the gut in ocd? A review of the gut microbiome in obsessive-compulsive disorder. *Depress Anxiety*. 2016;33:171-178
10. Mazurek MO, Vasa RA, Kalb LG, Kanne SM, Rosenberg D, Keefer A, et al. Anxiety, sensory over-responsivity, and gastrointestinal problems in children with autism spectrum disorders. *J Abnorm Child Psychol*. 2013;41:165-176.
11. Sherwin E, Rea K, Dinan TG, Cryan JF. A gut (microbiome) feeling about the brain. *Curr Opin Gastroenterol*. 2016;32:96-102.
12. Kang DW, Adams JB, Gregory AC, Borody T, Chittick L, Fasano A, et al. Microbiota Transfer Therapy alters gut ecosystem and improves gastrointestinal and autism symptoms: an open-label study. *Microbiome*. 2017;5:10.

13. Kaluzna-Czaplinska J, Blaszczyk S. The level of arabinitol in autistic children after probiotic therapy. *Nutrition*. 2012;28:124-126.
14. Kałuzna-Czaplinska J. Noninvasive urinary organic acids test to assess biochemical and nutritional individuality in autistic children. *Clin Biochem*. 2011;44:686-691.
15. Matsumoto I, Kuhara T. A new chemical diagnostic method for Inborn Errors of Metabolism by mass spectrometry – Rapid, practical and simultaneous urinary metabolites analysis. *Mass Spectrometry Reviews*. 1996;15:43-57.
16. Kesli R, Gokcen C, Bulug U, Terzi Y. Investigation of the relation between anaerobic bacteria genus clostridium and late-onset autism etiology in children. *J Immunoassay Immunochem*. 2014;35:101-109.
17. Shaw W. Increased urinary excretion of a 3-(3-hydroxyphenyl)-3-hydroxypropionic acid (HPHPA), an abnormal phenylalanine metabolite of Clostridia spp. in the gastrointestinal tract, in urine samples from patients with autism and schizophrenia. *Nutr Neurosci*. 2010;13:135-143.
18. Xiong X, Liu D, Wang Y, Zeng T, Peng, Y. Urinary 3-(3-Hydroxyphenyl)-3-hydroxypropionic Acid, 3-Hydroxyphenylacetic Acid, and 3-Hydroxyhippuric Acid are elevated in children with autism spectrum disorders. *BioMed Res Int*. 2016;2016:9485412.
19. de Theije CG, Wopereis H, Ramadan M, van Eijndthoven T, Lambert J, Knol, J et al. Altered gut microbiota and activity in a murine model of autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun*. 2014;37:197-206.
20. Nikolov RN, Bearss KE, Lettinga J, Erickson C, Rodowski M, Aman MG et al. Gastrointestinal symptoms in a sample of children with pervasive developmental disorders. *J Autism Dev Disord*. 2009;39:405-413.
21. Garcín PRC, Goldbard Rochman D. Manifestaciones gastrointestinales en niños con trastorno de espectro autista. *An Med (Mex)*. 2015;60:266-272.
22. Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, Buchanan CP, Maxwell AP, Väisänen ML et al. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. *J Child Neurol*. 2000;15:429-435.
23. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*. 2013;155:1451-1463.
24. Gondalia S V, Palombo EA, Knowles SR, Cox SB, Meyer D, Austin DW et al. Molecular characterisation of gastrointestinal microbiota of children with autism (with and without gastrointestinal dysfunction) and their neurotypical siblings. *Autism Res*. 2012;5:419-427.

25. Enciclopedia Médica A.D.A.M. [Internet]. Atlanta (GA): A.D.A.M., Inc.; ©2005. Trastorno obsesivo compulsivo [última actualización 04/04/17][última visita 24/04/17]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/000929.htm>
26. Rees JC. Obsessive–compulsive disorder and gut microbiota dysregulation. *Med Hypotheses*. 2014;82:163-166.
27. West R, Roberts E, Sichel LS, Sichel J. Improvements in gastrointestinal symptoms among children with autism spectrum disorder receiving the Delpro® probiotic and immunomodulatory formulation. *J. Probiotics Health*. 2013;1:102.
28. Tomova A, Husarova V, Lakatosova S, Bakos J, Vlkova B, Babinska K, et al. Gastrointestinal microbiota in children with autism in Slovakia. *Physiol. Behav*. 2015;138:179-187.
29. Grossi E, Melli S, Dunca D, Terruzzi V. Unexpected improvement in core autism spectrum disorder symptoms after long-term treatment with probiotics. *SAGE Open Med. Case Rep*. 2016;4:1-5.
30. Grimaldi R, Cela D, Swann JR, Vulevic J, Gibson GR, Tzortzis G, et al. In vitro fermentation of B-GOS: impact on faecal bacterial populations and metabolic activity in autistic and non-autistic children. *FEMS Microbiol. Ecol*. 2017;93:fiw233.
31. Mangiola F, Ianiro G, Franceschi F, Faggioli S, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Gut microbiota in autism and mood disorders. *World J.Gastroenterol*. 2016;22:361-368.
32. Frye RE, Slattery J, MacFabe DF, Allen-Vercoe E, Parker W, Rodakis J et al. Approaches to studying and manipulating the enteric microbiome to improve autism symptoms. *Microb Ecol Health Dis*. 2015;26:26878.
33. Finegold SM. Therapy and epidemiology of autism--clostridial spores as key elements. *Med Hypotheses*. 2008;70:508-511.
34. Musgrave CR, Bookstaver PB, Sutton SS, Miller AD. Use of alternative or adjuvant pharmacologic treatment strategies in the prevention and treatment of *Clostridium difficile* infection. *Int J Infect Dis*. 2011;15:438-448.
35. Venugopalan V, Shriner KA, Wong-Beringer A. Regulatory oversight and safety of probiotic use. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:1661-1665.
36. Parracho HM, Bingham MO, Gibson GR, McCartney AL. Differences between the gut microflora of children with autistic spectrum disorders and that of healthy children. *J Med Microbiol*. 2005;54:987-991.



37. Rätsep M, Kõljalg S, Sepp E, Smidt I, Truusalu K, Songisepp E et al. A combination of the probiotic and prebiotic product can prevent the germination of *Clostridium difficile* spores and infection. *Anaerobe*. 2017;29:94-103
38. González L, Zárata V. Inhibitory activity of *Lactobacillus plantarum* TF711 against *Clostridium sporogenes* when used as adjunct culture in cheese manufacture. *J Dairy Res*. 2015;82:236-241.
39. Mooyottu S, Flock G, Upadhyay A, Upadhyaya I, Maas K, Venkitanarayanan K. Protective effect of carvacrol against gut dysbiosis and *clostridium difficile* associated disease in a mouse model. *Front Microbiol*. 2017;8:625.
40. Wrigley DM. Inhibition of *Clostridium perfringens* sporulation by *Bacteroides fragilis* and short-chain fatty acids. *Anaerobe*. 2004;10:295-300.
41. Santocchi E, Guiducci L, Fulceri F, Billeci L, Buzzigoli E, Apicella F. et al. Gut to brain interaction in Autism Spectrum Disorders: a randomized controlled trial on the role of probiotics on clinical, biochemical and neurophysiological parameters. *BMC Psychiatry*. 2016;16:183.
42. Li Q, Han Y, Dy AB, Hagerman RJ. The Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorders. *Front Cell Neurosci*. 2017;11:120.
43. Chanyi RM, Craven L, Harvey B, Reid G, Silverman MJ, Burton JP. Faecal microbiota transplantation: Where did it start? What have studies taught us? Where is it going?. *SAGE Open Med*. 2017;5:1-6.
44. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*. 2012;489:220–230.
45. Burokas A, Arboleya S, Moloney RD, Peterson VL, Murphy K, Clarke G, et al. Targeting the microbiota-gut-brain axis: prebiotics have anxiolytic and antidepressant-like effects and reverse the impact of chronic stress in mice. *Biol Psychiatry*. 2017;82:482-487.
46. Liu X, Cao S, Zhang X. Modulation of gut microbiota-brain axis by probiotics, prebiotics, and diet. *J Agric Food Chem*. 2015;63:7885-7895.
47. Klinder A, Shen Q, Heppel S, Lovegrove JA, Rowland I, Tuohy KM. Impact of increasing fruit and vegetables and flavonoid intake on the human gut microbiota. *Food Funct*. 2016;7:1788-1796.
48. Martí JM, Martínez-Martínez D, Rubio T, Gracia C, Peña M, Latorre A, et al. Health and disease imprinted in the time variability of the human microbiome. *mSystems*. 2017;2:e00144-16.
49. de Meij TG, Budding AE, de Groot EF, Jansen FM, Frank Kneepkens CM, Benninga MA et al. Composition and stability of intestinal microbiota of healthy children within a Dutch population. *FASEB J*. 2016;30:1512-1522.

50. Davenport ER, Mizrahi-Man O, Michelini K, Barreiro LB, Ober C, Gilad Y. Seasonal variation in human gut microbiome composition. *PLoS One*. 2014;9:e90731
51. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334:105-108.