

TRABAJO FIN DE GRADO

Modalidad: Revisión bibliográfica.

Grado: Farmacia.

Convocatoria: Febrero 2022 en UMH San Juan.

INFLUENCIA Y RELACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL CON LA FISIOPATOLOGÍA Y LA EVOLUCIÓN DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Autor: Iván Checa Nieto.

Tutora: Esther Caparrós Cayuela.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	3
RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
1. Definición y tipos de esclerosis múltiple	5
2. Sistema inmunitario y microbiota intestinal en EM	6
3. Relación microbiota-SNC	7
OBJETIVOS	10
MÉTODOS	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
1. EVIDENCIAS DE LA EXISTENCIA DEL EJE INTESTINO-CEREBRO	13
2. RELACIÓN MICROBIOTA INTESTINAL CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE.	16
3. INFLUENCIA DE LA DIETA Y LOS ELEMENTOS QUE LA COMPONEN EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE.	19
1. Ayuno intermitente y esclerosis múltiple.	19
2. Impacto de la ingesta de sal (NaCl) en EM.	21
3. Microbiota y células B.	23
4. Manejo nutricional de la EM con propionato.	24
5. Implicación del TRIPTÓFANO EN LA EM	25
4. TRATAMIENTOS DISPONIBLES PARA LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE MEDIANTE UN CAMBIO EN LA MICROBIOTA INTESTINAL.	27
3.1. Posibles sinergias entre el uso de probióticos y tratamiento para EM.	27
CONCLUSIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	33

ABREVIATURAS

BHE= barrera hematoencefálica

EAE= encefalomiелitis autoinmune experimental

EM = Esclerosis múltiple.

EMRR = Esclerosis Múltiple remitente-recurrente

GF = Ratones libres de gérmenes.

IL= interleucina

OTU= Unidades Taxonómicas Operativas.

SNC = Sistema Nervioso Central.

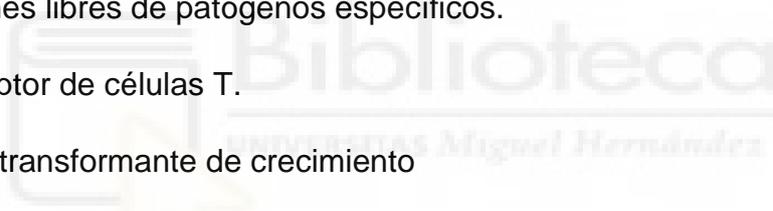
SPF = Ratones libres de patógenos específicos.

TCR = Receptor de células T.

TGF= factor transformante de crecimiento

Th= T helper (colaboradora)

TNF= factor de necrosis tumoral



RESUMEN

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad autoinmune en la que se ven afectadas principalmente las vainas de mielina, aunque también afecta a otras áreas y estructuras del Sistema Nervioso Central (SNC) y entérico. Esta patología resulta incapacitante tras la acumulación de lesiones neuronales de forma progresiva. El tratamiento de la EM es amplio y variado en mecanismos, pero en general tiene el objetivo de modular y/o suprimir el sistema inmunológico para así reducir la posibilidad de producir daños a nivel neuronal. No se conoce el origen de esta enfermedad, pero se conocen algunos factores de riesgo que pueden afectar a la misma, entre ellos la diferente composición de la microbiota intestinal. En esta revisión se recopilará información sobre la relación entre el intestino y el SNC llamado eje microbiota-intestino-cerebro, y en concreto su papel en el curso de la EM. La búsqueda bibliográfica se ha realizado en las bases de datos Medline, en concreto Pubmed.

Los resultados obtenidos demuestran que hay una influencia real sobre el SNC por parte de la microbiota, lo cual supone una nueva forma de comprender esta compleja enfermedad, pero se necesitan más ensayos y un mejor diseño para poder evaluar correctamente la viabilidad y el efecto real de tratamientos relacionados con la microbiota intestinal. Se ha observado que el uso de antibióticos o de probióticos pueden afectar de diferente manera al estado de ánimo y al desarrollo neuronal y que el inicio de la autoinmunidad en la EM podría comenzar en el intestino y acabar emigrando y afectando al SNC. También se observó que el ayuno intermitente (6/7 días de la semana), una reducción del consumo de sal, complementos de propionato y una reducción del aporte de triptófano pueden contribuir por separado a favorecer estados antiinflamatorios a nivel inmunológico, afectando a la microbiota y favoreciendo especies caracterizadas por contribuir a estos estados antiinflamatorios. Además, el uso de probióticos y antibióticos se ha mostrado como seguro y podría tener cierta eficacia en la prevención de nuevos brotes, o retrasando el avance de la enfermedad; sin embargo, se necesitan hacer más estudios al respecto.

INTRODUCCIÓN

1. Definición y tipos de esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple (EM) es un trastorno inflamatorio crónico autoinmune mediado predominantemente por células T, que inducen desmielinización multifocal y gliosis con pérdida de oligodendrocitos y axones. Es el resultado de la compleja interacción entre la susceptibilidad genética y factores ambientales como la infección crónica por el virus de Epstein-Barr (VEB), el tabaquismo y la deficiencia de la vitamina D. Si bien cada persona experimentará una combinación diferente de síntomas de EM, hay varias modalidades definidas de presentación y evolución de la EM, estas son:

- **Esclerosis múltiple recurrente-remitente (EMRR):** En esta forma de EM se producen periodos de recaída (llamados brotes) que van seguidos de etapas de estabilización de duración variable (días o meses) en esta fase se producen los síntomas y efectos de dicha enfermedad. Tras esta fase se puede producir una recuperación parcial o total de los síntomas y a enfermedad queda ausente meses o años. Es la más frecuente al inicio, afectando al 85% de los pacientes que inician.
- **Esclerosis múltiple progresiva secundaria (EMPS):** En algunos casos que comienzan con EMRR, se desarrolla posteriormente una incapacidad progresiva en el curso de la enfermedad, con recaídas superpuestas y sin periodos de remisión. Afecta del 30-50% de pacientes con EMRR.
- **Esclerosis múltiple progresiva primaria (EMPP):** Esta forma de EM se caracteriza por la ausencia de brotes definidos, con un comienzo lento y un empeoramiento constante de los síntomas y de la discapacidad. Aproximadamente afecta al 10% de los pacientes diagnosticados con EM.
- **Esclerosis múltiple progresiva recidivante (EMPR):** Es la forma menos común, dándose en el 5% de los casos. Se caracteriza por una progresión constante y sin remisiones desde el comienzo con una clara superposición de brotes con o sin recuperación completa. [\(1\)](#)

2. Sistema inmunitario y microbiota intestinal en EM

Las enfermedades neuroinflamatorias como la EM se presentan cuando los leucocitos periféricos migran al sistema nervioso central (SNC) y liberan una serie de citocinas, favoreciendo el perfil efector de linfocitos T helper (Th)1 y Th17 y provocando inflamación, daño tisular y deterioro cognitivo. Las citocinas más importantes en la fisiopatología de la EM son las siguientes:

- IL-23, producida por células presentadoras de antígenos.
- IL-17, que destruye la integridad de la barrera hematoencefálica (BHE), permitiendo así la migración de leucocitos al SNC y que se desencadene el proceso inflamatorio.
- IL-6, que bloquea la expresión de FoxP3 de las células Th efectoras, impidiendo su función reguladora.
- Interferón gamma (IFN-gamma), que principalmente tiene un papel proinflamatorio.
- TNF, con papel proinflamatorio y su bloqueo en EM da lugar a recaídas más frecuentes y graves.
- GM-CSF, producida por células T en respuesta a la IL-23 y que se ha asociado con funciones neurodegenerativas de la microglía.
- TGF-beta, con tres isoformas y expresión diferente por tejido, favorece la infiltración por células Th1 en el SNC en los pacientes con EM y está parcialmente regulada por las funciones de TGF-beta.

Por otro lado, se encuentran otros componentes del sistema inmune que contribuyen a reducir la respuesta inmune y a controlarla o prevenirla. Este es el caso de las células Treg, que son inducidas principalmente por TGF-beta, se expresan como TCD4+ y regulan la expresión de células T mediante la internalización del receptor IL-2, otras interleucinas que contribuyen al mecanismo antiinflamatorio es la IL-10 o la IL-12. También participan otros tipos de células como los linfocitos B, pertenecientes a la inmunidad humoral. Estas células varían en el trascurso de la enfermedad, se desconoce cuáles son los autoantígenos que tienen como diana los anticuerpos producidos por estos linfocitos, por lo que los mecanismos de activación, selección y maduración de

estos está por describir. Aun así, son de gran relevancia, ya que producen las bandas oligoclonales y existen tratamientos efectivos (rituximab u ocrelizumab) frente a esta enfermedad cuyo mecanismo consiste en bloquear estas células [\(2\)](#).

Por otro lado, se ha propuesto la teoría de que la microbiota intestinal puede influir o sea un factor de riesgo más en la EM, dada la estrecha conexión entre el intestino y el SNC. Se denomina microbiota al conjunto de millones de microorganismos que conviven en simbiosis, principalmente en nuestro tracto digestivo. Este varía según el individuo, por la dieta, los estilos de vida o el consumo de antibióticos, entre otros tantos factores. De forma general en la infancia predominan los filos *Actinobacteria* y *Proteobacteria*, pero en la edad adulta comienzan a descender y predominan los *Firmicutes* y *Bacteroidetes*.

Estas son los filos que predominan según el tracto del tubo digestivo:

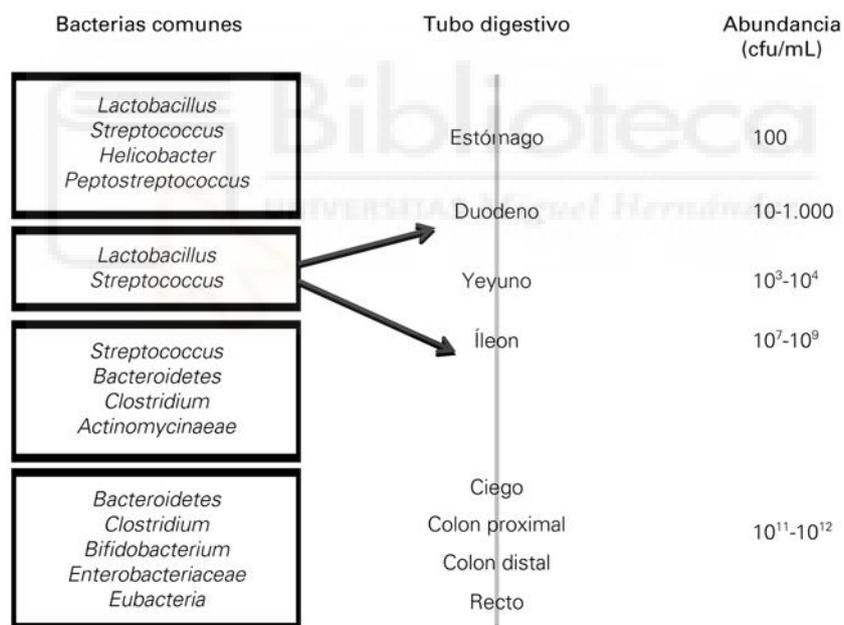


Figura 1. Evolución de la cantidad y variedad de la microbiota a lo largo del tracto digestivo [\(5\)](#).

3. Relación microbiota-SNC

El eje intestino-cerebro es un complejo sistema que relaciona la microbiota con el sistema nervioso entérico, el sistema nervioso autónomo, el sistema neuroendocrino, el sistema neuroinmune y, en definitiva, el sistema nervioso central. La relación entre ambas partes del eje se realiza mediante diversas vías

de comunicación, como el nervio vago, el sistema circulatorio y el sistema inmunitario:

- **Nervio vago:** Es una de las principales vías para transmitir la información desde la microbiota al sistema nervioso central. Este papel se ha demostrado tras la administración de *Lactobacillus rhamnosus* a ratones vagotomizados (nervio extraído). Mientras que en controles se favorece la transcripción de GABA, en los vagotomizados no ocurría así, por lo que hay una modificación del comportamiento en ratones que carecen de este nervio [\(3\)](#).
- **Sistema circulatorio:**
 - 1.1. **Neurohormonas:** Las neurohormonas se liberan desde las células neuroendocrinas del intestino y actúan, directa o indirectamente, en la modulación del comportamiento. Es el caso de precursores de la serotonina, así como el triptófano, que son regulados por la microbiota y ello actúa de forma indirecta con la formación de serotonina.
 - 1.2. **Ácidos grasos de cadena corta:** La microbiota participa en la hidrólisis de los distintos polisacáridos en ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como el propionato, el butirato y el acetato, que atraviesan la BHE y tienen repercusiones en el SNC y en la propia BHE, manteniendo su integridad.
 - 1.3. **Eje hipotálamo-pituitario-adrenal:** La microbiota también afecta en este eje, liberando cortisol. Existen estudios en ratones que demuestran que niveles altos de *Lactobacillus rhamnosus* se correlacionan con menores niveles de corticoesterona, mejor control del estrés, menos síntomas de depresión y menor liberación de citocinas inflamatorias [\(4\)](#).
- **Sistema inmune:** Los patrones moleculares asociados a diferentes patógenos son la forma de presentación de la microbiota frente al sistema inmune. Uno de ellos son los lipopolisacáridos. Estos lipopolisacáridos activan las células del sistema inmune, particularmente las del sistema innato (macrófagos, neutrófilos y células dendríticas). Una vez activadas, producen citocinas inflamatorias (IL-1a, IL-1b, TNF-alfa e IL-6) que

atraviesan la BHE. En el cerebro, estas citocinas actúan sobre los receptores expresados en las neuronas y las células gliales, concretamente en la microglía, alterando su estado de activación y función. A su vez, las citocinas son capaces de actuar sobre los receptores de diferentes nervios aferentes promoviendo alteraciones de las señales desde el tubo digestivo hasta el sistema nervioso central [\(5\)](#).



OBJETIVOS

Este TFG estudia la relación que existe entre la microbiota y la fisiopatología y la evolución de la esclerosis múltiple. Para ello nos planteamos los diferentes objetivos:

- Evaluar la relación del eje microbioma-intestino-cerebro y su funcionamiento con la enfermedad.
- Estudiar la influencia de la dieta y los elementos que la componen en la enfermedad.
- Analizar las posibles vías de tratamiento de la esclerosis múltiple relacionadas con la microbiota y su impacto sobre la enfermedad.



MÉTODOS

Para la búsqueda bibliográfica he empleado como base de datos principal Medline, usando como buscador Pubmed.

Los descriptores que he utilizado son: “*Immune system*”, “*Multiple Sclerosis*” y “*Microbiota*”, conectados formando la siguiente ecuación: ((*Immune System*[Mesh]) AND (*Microbiota*[Mesh])) AND (*Multiple Sclerosis*[Mesh]). Además, he empleado otra ecuación de búsqueda para ampliar la información sobre la dieta y su influencia en la esclerosis múltiple: ((*Immune System*[Mesh]) AND (*Multiple Sclerosis*[Mesh])) AND (*Diet*[Mesh]). Por otra parte, he elegido algunos artículos relacionados con los encontrados en la ecuación general que Pubmed sugiere como relacionados. Por último, he seleccionado algunos artículos que eran citados dentro de los propios artículos encontrados en dichas ecuaciones de búsqueda.

Se han seleccionado artículos de los últimos 5 años (2017-2021), tanto en humanos, como modelo animal murino, necesario para obtener información de investigación en curso. Se incluyen ambos sexos y sin restricción de edad. En la búsqueda general con los descriptores mencionados y con los filtros aplicados, encontramos un total de **33 artículos**. En la ecuación complementaria mencionada sobre la dieta se han encontrado **6 artículos**, dos de los cuales ya se encontraban en la ecuación general ([Figura 2](#)).

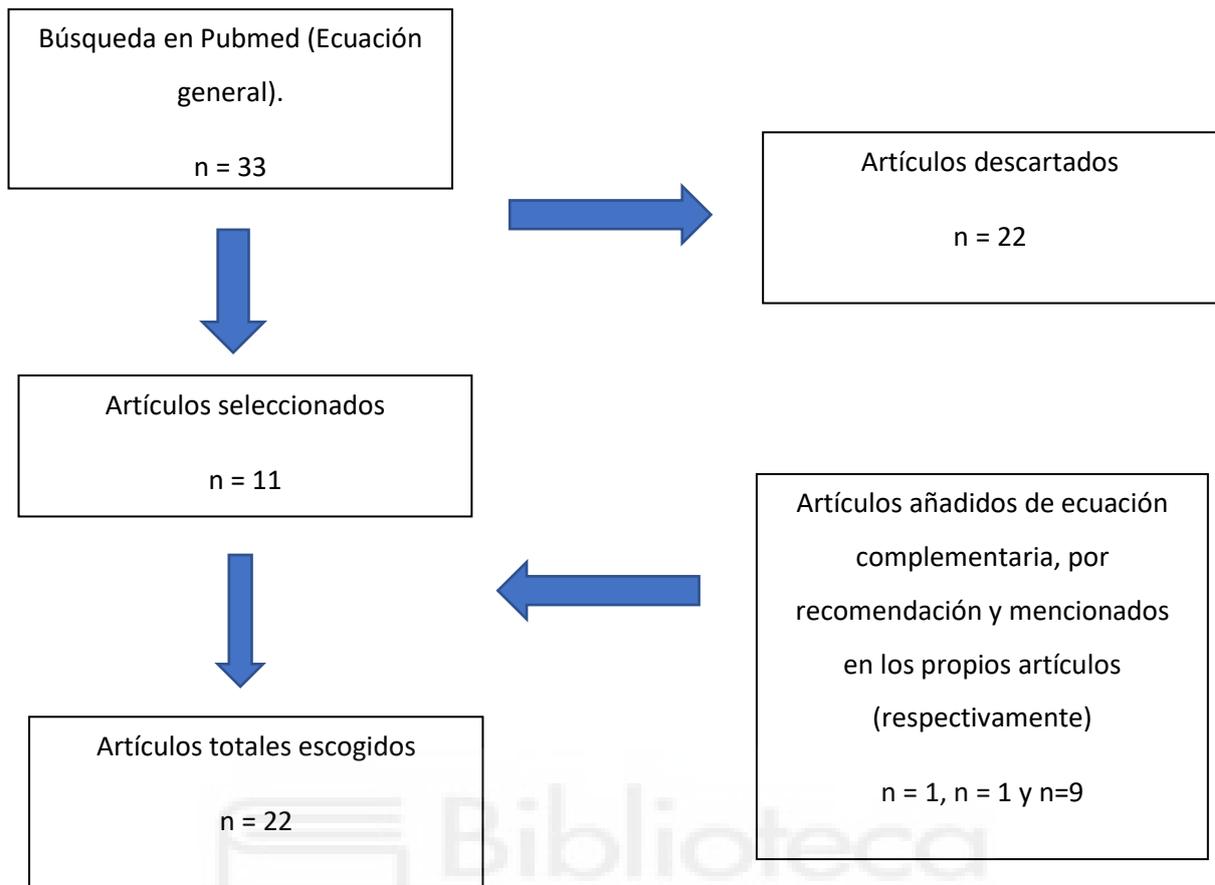


Figura 2. Ecuación de búsqueda bibliográfica.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. EVIDENCIAS DE LA EXISTENCIA DEL EJE INTESTINO-CEREBRO

La microbiota intestinal es una comunidad de microorganismos comensales y simbióticos que habitan en ciertas zonas de nuestro organismo. Respecto al intestino grueso humano alcanza una densidad de 10^{12} células/g. ⁽⁶⁾ La influencia de dicha microbiota en el neurodesarrollo se conocía desde principios de la década de 2000. Los primeros experimentos en ratones libre de gérmenes (GF) o libres de patógenos específicos (SPF) tratados con antibióticos, para reducir la diversidad microbiana dentro del intestino, mostraron que se producen varios problemas neurológicos en ratones con una microbiota intestinal madura, reducida o sin la adecuada. ⁽⁷⁾

En detalle, en comparación con los ratones colonizados, los ratones GF mostraron una reacción exagerada de estrés de restricción hipotálamo-pituitaria-suprarrenal (HPA), comportamientos sociales deteriorados, reducción del comportamiento similar a la ansiedad y aumento de la actividad motora. Se ha comprobado que el tratamiento con ciertos antibióticos reduce la expresión de las proteínas formadoras de unión estrecha, ocludina y claudina-5, y en el cerebro, el aumento de la permeabilidad de la BHE, reduce los comportamientos similares a la ansiedad y aumenta el comportamiento exploratorio. Un dato importante a destacar es que los microbios pueden producir moléculas neuroactivas que contribuyen directamente a la comunicación entre el intestino y el cerebro.

Ciertos neurotransmisores, como la acetilcolina, el GABA y la serotonina son producidos por bacterias, pertenecientes a las especies *Lactobacillus*, *Bifidobacteria*, *Enterococcus* y *Streptococcus*, pudiendo influir directa o indirectamente en la fisiopatología de ciertas enfermedades. El 90% de la serotonina requerida para muchas funciones del SNC y del tracto GI se producen en el intestino. La unión de serotonina a los receptores 5-HT en la microglía induce la liberación de exosomas portadores de citocinas, lo que proporciona

otro mecanismo para la modulación de la neuroinflamación inducida por el intestino.

Otro metabolito microbiano que influye en la actividad de la microglía es el triptófano, que mediante sus derivados aportados en la dieta y por un mecanismo mediado por el receptor aril hidrocarburo (Ahr), actúa sobre la activación microglial y el programa transcripcional de los astrocitos, por lo que podría tener un cierto control sobre la inflamación del SNC. Además, se ha observado que incluso podría tener un efecto en el desarrollo neuronal desde el nacimiento. En 2019, el grupo de Artis D. [\(8\)](#) demostró que los ratones SPF tratados con un cóctel de ATBs de amplio espectro, es decir, que pasan a ser ratones GF, son recolonizados tras dejar de ser amamantados con una microbiota simple o compleja, y estos tienen defectos en el aprendizaje sobre la extinción del miedo, en comparación con ratones SPF o GF con flora SPF en el momento del nacimiento. Este proceso de aprendizaje ocurre después de experimentar un peligro ambiental y se ha relacionado con múltiples trastornos neuropsiquiátricos, como es el trastorno de estrés postraumático.

Pero, ¿cómo interactúa el intestino con el cerebro?

- **A través del SNE:** Este está conectado directamente con el cerebro a través de la inervación simpática y parasimpática del intestino. Numerosos estudios se han centrado en el papel del nervio vago, como parte de la vía antiinflamatoria colinérgica y por su capacidad para detectar los estímulos intestinales y transmitirlos al cerebro. Las fibras eferentes vagales también regulan las respuestas inmunitarias y la producción de citocinas mediante la activación de la señalización de acetilcolina/ alfa7nicotínico-acetilcolina. Estas inervan la pared intestinal indirectamente a través de sinapsis que contactan con el SNE en el plexo mesentérico, esto sugiere que la estimulación central del nervio vago conduce a la activación de neuronas entéricas que liberan factores como la acetilcolina, y esto podría afectar al sistema inmune. Por otro lado, las fibras aferentes vagales pueden detectar un amplio espectro de moléculas proinflamatorias y neuroprotectoras, producidas por la microbiota o por el

huésped y así transmitir señales intestinales al SNC. Esto se ejemplifica en el ensayo realizado por Pérez-Burgos y colaboradores [\(9\)](#) donde observan que la administración de *L. rhamnosus* reduce la ansiedad y la depresión en ratones al revertir la expresión de los receptores del ácido gamma-aminobutírico a nivel del SNC de una manera dependiente del nervio vago, el cual produce varios de los síntomas de este trastorno.

- **A través de la vía cruzada con el sistema inmunológico:** El SI interactúa estrechamente con los nervios y las células epiteliales, ya que detectan los metabolitos de la microbiota. Las células de este sistema expresan una gran variedad de receptores para neurotransmisores/neuropéptidos, y a su vez, las neuronas responden a las citocinas. Además, de la misma forma que se conoce el efecto antiinflamatorio del sistema colinérgico (parasimpático), el sistema simpático también afecta a las células inmunitarias de manera diferente, sus efectos dependen del tipo, concentración del neurotransmisor, la afinidad de los subtipos de receptores en las células inmunes y las diferentes funciones del sistema nervioso simpático durante las diferentes fases de la inflamación.
- **Mediante la detección de metabolitos microbianos:** Existen microbios cuyos productos producidos pueden afectar tanto a nivel inmunitario como a nivel de sistema central, hay una grandísima cantidad de artículos que plantean situaciones en las que este afecta e influencia a la BHE, y que estos productos (los más destacables los AGCC) afecten una vez dentro, lo cual desarrollaremos más adelante, incluso la permeabilidad excesiva de la BHE se puede solucionar utilizando la cepa adecuada.

Estudios realizados demuestran la conexión real entre el sistema gastrointestinal, el sistema nervioso central y el sistema inmune, y que se manifiestan en múltiples patologías. Esta relación puede ser una razón etiológica o tener un impacto sobre la evolución de diversas patologías, desarrollo del

organismo, o contribuir a desarrollar enfermedades por déficits de ciertos componentes obtenidos gracias a la microbiota [\(10\)](#).

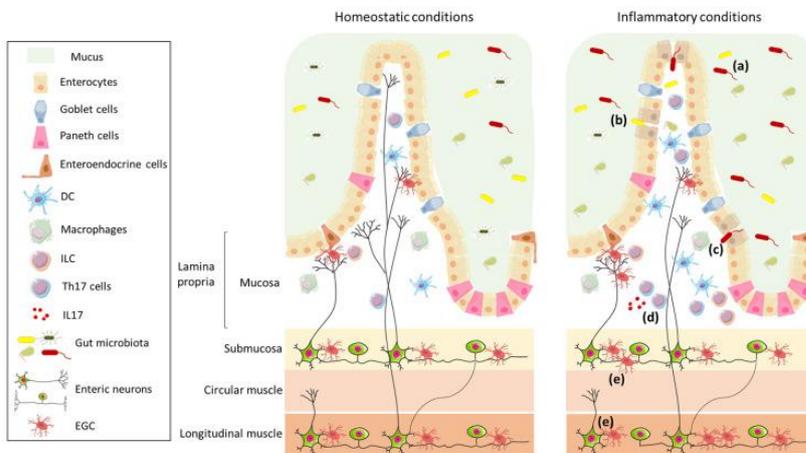


Figura 3. Representación esquemática de la pared intestinal en condiciones homeostáticas e inflamatorias [\(10\)](#).

2. RELACIÓN MICROBIOTA INTESTINAL CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE.

Los factores patológicos o ambientales perjudican directa o indirectamente la integridad de la barrera intestinal favoreciendo su permeabilidad. Esto puede ocurrir a través de cambios en la microbiota o por una mayor activación de las células inmunes de la mucosa, como es el caso de la Enfermedad inflamatoria intestinal (EII). En el contexto del eje intestino-cerebro, un intestino permeable se ha convertido en un importante foco de interés para los trastornos neurológicos en la última década, con la demostración de disbiosis de la microbiota intestinal y/o una barrera intestinal deteriorada en enfermedades neurológicas con diferentes etiologías, tales como apoplejía, enfermedad de Huntington y esclerosis lateral amiotrófica. La alteración de la barrera intestinal se ha ido relacionando con trastornos cognitivos asociados o no con la neurodegeneración, como es el caso del trastorno del espectro autista (TEA), con inflamación gastrointestinal informada en hasta el 84% de los casos. Aunque la idea de una neuropatología que pudiese ser provocada por un intestino impermeable se ejemplifica mejor en estudios recientes sobre la enfermedad de

Parkinson. Estudios recientes en ratones apoyan esta idea, y plantean que las fibrillas de alfa-sinucleína son inyectadas en la capa muscular del píloro y el duodeno (inervados densamente por el nervio vago), y estas resultan en la propagación patológica de esta proteína al SNC a través de dicho nervio, con pérdida de neuronas dopaminérgicas y síntomas clínicos similares a la EP. Esto nos da indicios de cómo se podría relacionar los eventos que ocurren en el intestino con el SNC, para así afectar de esta manera en la EM. De hecho, en la Enfermedad Intestinal Inflamatoria a menudo se relaciona con la desmielinización del SNC, algo característico de la EM.

Existen circunstancias en las que la microbiota intestinal podría generar situaciones proinflamatorias o antiinflamatorias, lo cual depende de los productos que genere, de la especie, etc... Conocer la dinámica del proceso de inflamación intestinal es de vital importancia para poder entender el funcionamiento y cascada de eventos que participan en esta patología.

El sistema inmunitario está directamente implicado en el desarrollo y establecimiento de distintas patologías. Las células T se activan en el intestino, y en concreto las células T CD4+ pueden desempeñar un papel en el inicio de la autoinmunidad del SNC. Un estudio reciente relacionó la autoinmunidad en un modelo de ratón espontáneo de EM con la expresión del inhibidor del factor de crecimiento transformante beta (TFG-beta) Smad7, en células T CD4+ intestinales. Smad7 impulsa las respuestas de células Th1 en EM y en encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE). La sobreexpresión de Smad7 en las células T de estos ratones condujo a parámetros de enfermedad muy aumentados en todos los niveles, y la enfermedad dependía de la inducción de las células T CD4+ en la barrera de la mucosa intestinal antes de su migración al SNC. Los experimentos de EAE de transferencia adoptiva mostraron que solo las células T derivadas del intestino o las células T tratadas para inducir la expresión de receptores que se dirigen al intestino pudieron desencadenar la enfermedad tras la transferencia en receptores de tipo salvaje.

En biopsias de tejido intestinal de 27 pacientes con EM y 27 individuos de control, se observó un patrón de diferenciación de células Th dependientes de TFG-beta

alterado en la lámina propia con mayor frecuencia de células T inflamatorias, y expresión reducida de FoxP3 (cuya deficiencia se asocia con trastornos autoinmunes).

Por otro lado, en otro estudio realizado en modelo de ratón (11) se observó que una disminución o ausencia de IL-17 se asociaba con una disminución de la actividad de la EAE, y al haber presencia de esta, se restauraba la microbiota y se volvía a producir la EAE. Todo esto va precedido por la infiltración de estos factores en el SNC, produciendo la desmielinización y la pérdida axonal. Se observa que hay factores indicadores de que la inflamación intestinal es el entorno en el que se produce o se podría producir la inflamación del SNC.

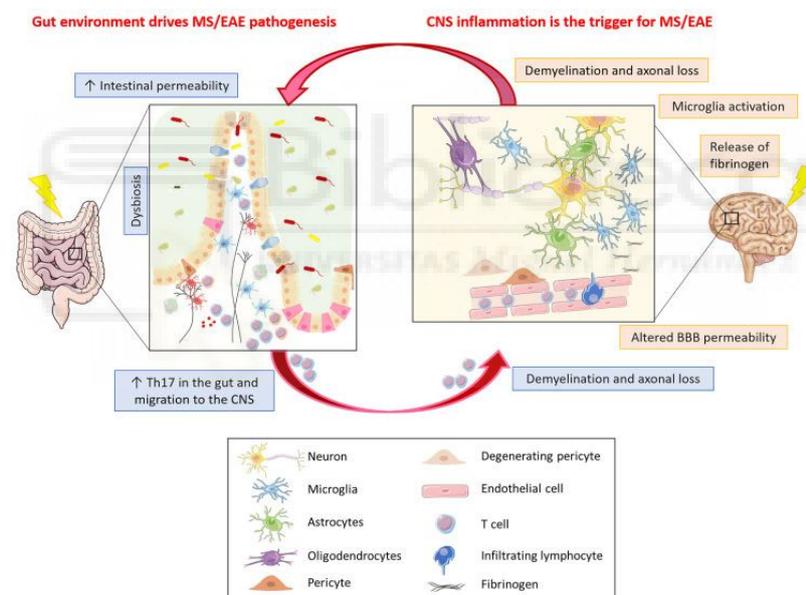


Figura 4. Representación de las consecuencias del aumento de la permeabilidad intestinal (10)

En otro sentido, distintos estudios evidencian que se puede considerar la propia inflamación del SNC como principal desencadenante de la EM. El mimetismo molecular con proteínas microbianas es de hecho una de las hipótesis etiológicas más comunes para la autoinmunidad patógena, incluida la EM. Los datos epidemiológicos indican que las infecciones virales son un factor de riesgo para la EM. El mimetismo molecular depende de la degeneración del

TCR, una característica común del reconocimiento de antígenos, por lo que un solo TCR es capaz de reconocer una multiplicidad de péptidos [\(10\)](#).

3. INFLUENCIA DE LA DIETA Y LOS ELEMENTOS QUE LA COMPONENTEN EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE.

1. Ayuno intermitente y esclerosis múltiple.

Según resultados publicados recientemente, la restricción calórica (RC) crónica mejora la EAE cuando se inicia antes de la inmunización, pero esta es poco aplicable en personas con EM de forma continua. Por esto, se llevaron a cabo estudios con dietas de ayuno intermitente (AI) [\(12\)](#). En estos, los ratones se mantuvieron en ayunas durante días alternos o se alimentaron *ad libitum* (grupo control) durante 4 semanas. Se observaron diferencias significativas entre los dos grupos. El grupo con AI tuvo una reducción de masa magra y de grasa corporal respecto al grupo control después de 4 semanas de la intervención.

También mejoró la incidencia de EAE en el grupo AI respecto al control, siendo de un 70% en el grupo AI y de un 100% en el control, además de tener un curso mucho menos grave. El grupo AI tenía menor infiltración de células inflamatorias y desmielinización (evaluada por histología y tinción de proteína básica de la mielina) en la médula espinal, menor producción de IL-17 e IFN-gamma (citocinas relevantes en la patogénesis de la EAE) [\(11\)](#). Por otro lado, en el grupo AI la media del día de inicio de la EAE se retrasó significativamente frente al grupo control. En general, el AI redujo la gravedad clínica de la EAE y la patología del SNC.

Por otro lado, dentro del mismo estudio, se identificaron los taxones específicos que estaban representados en los grupos AI y control. Se realizaron distintas mediciones en tres líneas de tiempo: T1, antes de iniciar el estudio; T2, después

de las 4 semanas; y T3, durante la EAE clínica (18 días), cada uno divididos entre el placebo y el AI. En el grupo T1 no se observaron diferencias significativas en la microbiota intestinal al inicio del estudio entre los dos grupos. En general, en el grupo control la diferencia no fue significativa en ninguno de los puntos, en cambio en el de AI sí lo fue, tanto en T2 como en T3. Entre estos, la abundancia de las familias *Bacteroidaceae*, *Lactobacillaceae* y *Prevotellaceae* aumentó en el AI en comparación con control T2, y fueron aumentando hasta las 4 semanas del ayuno intermitente. También aumentaron en el grupo AI las especies bacterianas *L. johnsonii*, *L. reuteri* y *L. sp. ASF360*, mientras que en el control se mantuvieron o disminuyeron. Es importante destacar que estas bacterias pueden ser tratamientos probióticos. *Bifidobacterium pseudolongum* aumentó en el grupo control en T3 (2,1% frente al 0,8% inicial). En el grupo AI no se detectó *B. fragilis*, definido como una especie protectora. En general, AI obtuvo un impacto profundo en la composición y abundancia del microbioma intestinal, siendo enriquecido en bacterias beneficiosas.

El AI también tuvo impacto a nivel sérico en adipocinas, corticosterona y cetonas. En el grupo AI los niveles de corticosterona, adiponectina y de cetonas (beta hidroxibutirato en concreto) fueron más altos que en el control.

El objetivo de este ensayo fue evaluar la seguridad, viabilidad y el cumplimiento del AI en pacientes con EM y obtener datos preliminares sobre los efectos del AI en los niveles de adipocinas en sangre y otros marcadores metabólicos o inmunoinflamatorios en pacientes con EMRR. Su duración fue de dos semanas e incluyó a 17 sujetos con EM y que experimentaron una recaída. Se asignaron al azar 50:50 a dieta control vs dieta AI (6 de 7 días), y 16 completaron el ensayo. No se descubrieron problemas de seguridad en el recuento sanguíneo completo, ni en las pruebas metabólicas. Se observó un aumento de neutrófilos en el día 15 en ambos grupos, algo esperado debido al tratamiento con esteroides. Hubo una diferencia significativa del IMC entre ambos grupos, siendo menor en el grupo AI. Mejoró el estado de discapacidad ampliada (probablemente debido tanto a la recuperación natural, como por el tratamiento con corticoides tras la

recaída), sin ninguna diferencia de mejora significativa entre ambos grupos. No se observaron diferencias en ninguno de los dos grupos, ni en el MSFC ni en el SDMT. Este es un resultado esperado en un ensayo pequeño sin ciego con pacientes y de corta duración.

Adicionalmente, se midió en suero tanto adipocina, como leptina y beta-hidroxiacetato. La leptina tuvo una reducción significativa en el grupo AI respecto al control, la adipocina fue aumentada en ambos grupos y la cetona no se vio alterada en ninguno de los dos grupos (esperado ya que para eso se necesitan más días con una baja ingesta de CH). Respecto al recuento celular, los T CD4+ y T CD8+ disminuyeron y el grupo AI respecto al control, siendo mayor la disminución de T CD4+.

Por otra parte, se observó una disminución estadísticamente significativa de Treg en el grupo control, pero estable en el grupo de AI. No se observó ninguna diferencia en el resto de células del sistema inmune. Con respecto a la microbiota, se hizo un balance comparando ambas especies (ratón y humano) para conseguir similitudes y poder concluir con una evaluación más fácilmente. No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos a los 15 días, pero la abundancia de *Faecalibacterium*, *Lhanospiracea_incertae_sedis* y *Blautia* tenía una tendencia creciente en el grupo AI [\(12\)](#).

2. Impacto de la ingesta de sal (NaCl) en EM.

Dada la importancia de la activación del sistema inmunitario en EM, se evaluó cómo influye una dieta alta en sal sobre determinadas células de la inmunidad adaptativa. En estudios recientes con modelo murino, se observa que la ingesta de altos niveles de NaCl aumenta la frecuencia de las células productoras de IL-17 en la lámina propia intestinal en comparación con los ratones con una dieta de niveles más bajos de sal. Además, se inhibe significativamente la secreción de IL-10 (interleucina relacionada con procesos antiinflamatorios) y la función supresora de Tregs en el intestino delgado sin afectar al número de células Treg. Estos resultados también se corroboraron en estudios en humanos donde la exposición de células mononucleares intestinales

humanas a altas concentraciones de cloruro de sodio mejoró la producción de IL-17A, IL-23R, TNF-alfa y ROR γ t, todas ellas relacionadas con un empeoramiento de la EM. Se produjo también un cambio en la composición de la microbiota, que podría tener efectos en el sistema inmune como los ya descritos. Las células Th17 se ven particularmente afectadas por la abundancia de bacterias comensales específicas, cuyas células participan en una mayor activación de las interleucinas citadas anteriormente.

En los modelos animales se observó una supresión de la cepa *Lactobacillus*, que puede estar relacionado con una inducción de las células Th17. De hecho, el tratamiento con esta cepa previno el aumento de células Th17 inducido por la sal, evitando la exacerbación de la EAE, con síntomas menos graves, inflamación reducida de células Th17 en la médula espinal y una producción disminuida de IL-17A en intestino y bazo.

Hay sesgos por la metodología para recopilar datos, ya que el consumo de sal se medía con un cuestionario de frecuencia alimentaria al inicio del estudio, sin seguir la evolución a lo largo del estudio respecto al consumo de sal o con un espacio de 12 meses, lo que puede reducir fiabilidad y haber una infraestimación.

En un estudio observacional de dos cohortes independientes de 70 pacientes con EM, la ingesta alta de sal en la dieta resultó en tasas de recaída más altas. Se observó que se correlacionaba positivamente con la cantidad de monocitos y fue paralela a un aumento de IL-6 e IL-23 (inductoras de células Th17), y reducción de IL-10. A su vez, el número de células T en sangre no se correlacionó con la cantidad de sal en la dieta. Además, los niveles plasmáticos de la IL-17 disminuyeron con una reducción en el consumo de sal en la dieta [\(13\)](#).

3. Microbiota y células B.

En varios estudios en animales y humanos se ha demostrado que las bacterias gastrointestinales participan en la diferenciación, maduración y activación de células B. Se realizó un estudio comparando recién nacidos en zonas empobrecidas de Pakistán y en Suecia. Se hizo un seguimiento sobre su desarrollo inmunológico en ambos, con dietas distintas (aporte proteico, calórico...). Las circunstancias socioeconómicas de cada país, implican un mayor aporte en Suecia, y menor en Pakistán. En las zonas empobrecidas se observó una maduración acelerada del sistema de IgA salival en bebés de la zona empobrecida en comparación con bebés suecos. Por otro lado, la microbiota intestinal de los bebés suecos tardó más en establecerse y se caracterizó por una menor diversidad, caracterizada principalmente por *Escherichia coli* y Bifidobacterias.

Por otro lado, la IgA intestinal puede influir en la composición de la microbiota intestinal, así como los probióticos afectan a la función de las células B ya que estimulan la producción de IgA. Estos son los casos de *Bifidobacterium lactis* y *Saccharomyces boulardii*, los cuales mejoraron la producción de IgA a través de la alteración del medio de citocinas de la mucosa intestinal de bebés prematuros y ratones.

Se considera que los anticuerpos IgA pueden desempeñar un papel en la EM, de hecho, estos tipos de anticuerpos aumentan de forma diferencial y considerable en la EM activa [\(14\)](#). Los anticuerpos anti-MBP (proteína básica de la mielina) pueden catalizar la hidrólisis de MBP, lo que podría contribuir a la desmielinización. De hecho, los anticuerpos dirigidos contra gliadina, gluten y caseína aumentaron en pacientes con EM. Está demostrado que la presencia de IgA como autoanticuerpos es importante y existen implicaciones en una mayor producción de estos, pero no hay resultados ni conclusiones claras hasta el momento [\(15\)](#).

4. Manejo nutricional de la EM con propionato.

El propionato es un ácido graso de cadena corta (AGCC) producido como metabolito por una serie de bacterias en nuestra microbiota constitutiva. Además se incluye en algunos alimentos, como algunos panes y productos lácteos para mejorar la vida útil. Es así que está clasificado como producto alimenticio en la Unión Europea y los Estados Unidos, por lo que se considera seguro para el público general. Se ha demostrado sistemáticamente que la disbiosis da como resultado una reducción de las bacterias productoras de AGCCs, y a su vez se ha demostrado una reducción de los niveles de propionato en heces y plasma en pacientes con EM independientemente del estadio de la enfermedad y en diferentes geografías.

El grupo de Tobin y colaboradores [\(16\)](#) mostró efectos de la suplementación diaria con propionato tras ver que en el modelo animal con ratones este AGCC era el único que podía mejorar la puntuación de la enfermedad (EAE). En este estudio los pacientes mostraron niveles significativamente más bajos de Treg, niveles más altos de células Th17, y diferencias en ciertos taxones de bacterias en comparación con los controles sanos, favorecedores de un estado proinflamatorio en pacientes con EM. A estos pacientes se les indicó una suplementación de 14 días con 1g de propionato por día, y se observó una reducción significativa en las células Th17 y un aumento en el número y actividad de las células Treg. Se realizó una suplementación a largo plazo con 1g de propionato al día con 97 pacientes con EM durante al menos un año. La ingesta de propionato se asoció con un beneficio significativo para los pacientes con EM, medido por la tasa de recaída anual y la puntuación de la escala de discapacidad ampliada.

El estudio tiene ciertas debilidades de diseño, como un grupo de control no tratado en lugar de un diseño controlado con placebo aleatorio y ciego. Tampoco se especifica qué tratamiento está usando el grupo con tratamiento frente al control (no tratado) y si los medicamentos cambiaron durante la suplementación. Pero cabe destacar que el tamaño muestral es mayor al usado normalmente. Por otra parte, el ensayo se centró más en administrar suplementos de propionato y no en probióticos que produzcan este AGCC. Además, este uso

como suplemento con efecto antiinflamatorio se ha demostrado que no está relacionado con una mayor mortalidad o morbilidad respecto a otras patologías (infecciones primarias e infecciones posteriores) [\(17\)](#).

5. Implicación del TRIPTÓFANO EN LA EM

En un modelo animal de ratón se demostró que existían efectos protectores respecto a reacciones inmunológicas proinflamatorias en la restricción de triptófano, que altera las propiedades metabólicas de la microbiota intestinal, lo cual tiene un impacto en las respuestas y el desarrollo de células T, que pasarán al SNC por la BHE.

Se comprobó que una reducción de aporte de proteínas del 20% al 5% reducía los signos clínicos de la EAE, pero su gravedad no se veía afectada. En esta reducción, el aminoácido que se veía más afectado era el triptófano, por lo que se retiró la administración del mismo. Esto generó características clave como menos permeabilidad en la BHE, menor infiltración de leucocitos y de células T o menor desmielinización, factores que si aparecieron en los ratones con dieta completa. Pese a que se prevenía la EAE, en el momento agudo de la enfermedad se produjeron los mismos efectos tanto en el grupo control como en el de triptófano reducido.

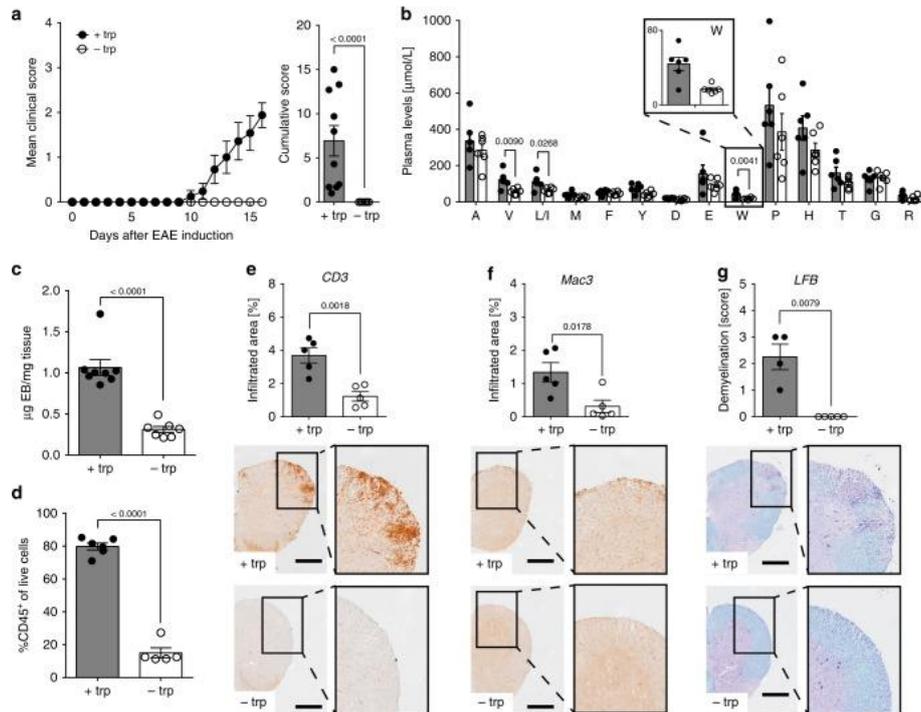


Figura 5. a) Puntuaciones clínicas medias de EAE y puntuaciones acumuladas. b) Concentraciones de aminoácidos en plasma 16 días después de la inmunización. c) Interrupción de la barrera hematoencefálica en la médula espinal evaluada por Evan's Blue 15 días tras inmunización. d) Análisis por citometría de flujo de la infiltración de leucocitos en la médula espinal el día 18 tras la inmunización. e-g) Secciones de la médula espinal de ratones EAE que se tiñeron para visualizar células T (e), macrófagos (f) y desmielinización (g) (18).

Por otra parte, y en el mismo estudio, se analizaron los cambios a nivel taxonómico en el grupo control y en el grupo con la restricción proteica, y se observó que *Akkermansia*, *Lactobacillus* y *Barnesiella* estaban disminuidos en el grupo de restricción proteica respecto al control.

Además, se observó que no producía un efecto sobre la frecuencia relativa de T CD4+ pero sí a su número. Sin embargo, se detectó una pérdida de IL-17, secreción reducida de IL-10, y menor producción de IFN-gamma tanto en el bazo como en los ganglios linfáticos de drenaje. También se afectó el nivel de la quimiocina CXCR3, que actúa en procesos migratorios de células T. En general se observó y se concluyó que la restricción del triptófano no suprime la inducción o el mantenimiento de las células T autorreactivas la frecuencia de T reg, pero sí reduce ciertas propiedades migratorias así como el número de linfocitos T CD4+ activados (18).

4. TRATAMIENTOS DISPONIBLES PARA LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE MEDIANTE UN CAMBIO EN LA MICROBIOTA INTESTINAL.

En este objetivo desarrollaremos algunos de los últimos estudios que se han publicado acerca del tratamiento de la EM relacionados con la alteración de la microbiota.

3.1. Posibles sinergias entre el uso de probióticos y tratamiento para EM.

Ninguna de las terapias modificadoras de la enfermedad que se usan actualmente son 100% eficaces, y no es posible combinarlas debido a la acumulación de sus efectos secundarios. Por lo tanto, surge la necesidad de agentes inmunomoduladores que sean más seguros y puedan aportar más eficacia. Una evaluación de estos tratamientos es lo que se desarrollará en los siguientes apartados.

3.1.1. Tratamiento con probióticos.

Los probióticos se han testado en diferentes estudios en el control de la microbiota intestinal para tratar distintas patologías a nivel intestinal [\(19\)\(20\)](#). En el trabajo de Stephanie K Tankou y colaboradores [\(21\)](#) se evaluó la respuesta de pacientes con EM con tratamiento con probióticos. Para ello se contó con población de estudio a pacientes con EMRR en tratamiento con glatiramero acetato (n=7), pacientes no tratados (n=2) y controles sanos (N=13). A todos se les administró LBS, un probiótico multicanal que contiene un total de 8 especies de bacterias (4 cepas de *Lactobacillus*, siendo estas *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. delbruckei subespecie bulgaricus*, 3 cepas de *Bifidobacterium*, siendo estas *B. longum*, *B. infantis*, *B. breve*, y 1 cepa de *Streptococcus*, siendo esta *S. thermophilus*) relacionadas con favorecer un estado antiinflamatorio. El protocolo de administración consistió en una administración por vía oral dos veces al día (un total de 3600 billones de UFC/día) durante dos meses. De cada paciente se obtuvieron muestras de sangre y heces antes del tratamiento, al finalizar y 3 meses después.

Se examinaron los taxones que predominaban en los distintos grupos, después de la administración de LBS, con un aumento en la abundancia relativa de la

familia *Veillonellaceae* y género *Collinsella* en los controles, dos taxones que no se determinaron en el intestino de pacientes con EM. Esta suplementación también se asoció con una disminución en la abundancia de taxones que se ha informado que está aumentado en pacientes con EM, incluidos los géneros *Akkermansia* (inductor Th1), *Blautia* y *Dorea*. También observamos una disminución en la abundancia relativa de *B. adolescentis* (inductor Th17), tras la suplementación con LBS en controles y pacientes con EM.

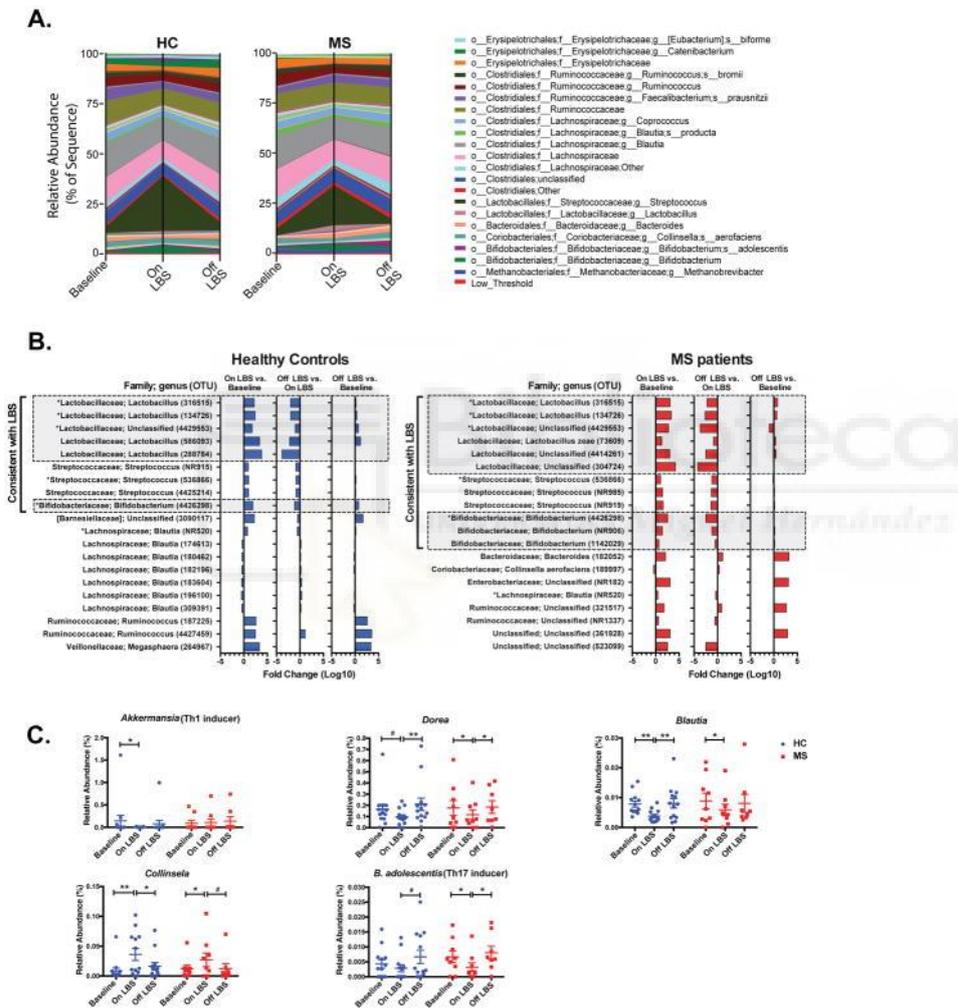


Figura 6. Modulación de la composición de la microbiota intestinal antes y después de la administración del probiótico. HC = control sano, MS = pacientes con Esclerosis múltiple (21).

La mayoría de los niveles de estos OTU volvieron a niveles de referencia después de la interrupción de LBS, por lo que el tratamiento con este puede revertir la composición de la microbiota. Respecto a la frecuencia de las células T en sangre periférica, no se observó ningún cambio significativo durante el

tratamiento con LBS, pero tras su interrupción se produjo una disminución de la frecuencia relativa de T CD4+, T reguladoras e IL-10 como los elementos más destacables. También se apreció una tendencia a aumentar la frecuencia de células T CD8+ de memoria efectoras tras el inicio de tratamiento con LBS en pacientes con EM. Adicionalmente se observó un cambio en la expresión génica en monocitos con disminución de genes proinflamatorios tras la suplementación con LBS. De la misma manera, en pacientes con EM (tratados y no tratados) se observó una disminución en la expresión de genes proinflamatorios tras la administración de LBS y se redujo la expresión del receptor MHC-II y la molécula coestimuladora CD80. Además, los géneros presentes tuvieron una correlación negativa con marcadores autoinmunes proinflamatorios pertenecientes a monocitos clásicos y células dendríticas.

Es un estudio prometedor que nos muestra una posibilidad de tener probióticos como un tratamiento seguro y adicionado a los tratamientos modificadores de la enfermedad como el glatiramero acetato. Para ello se necesita mayor tamaño muestral para que tenga un mayor valor estadístico, y una mayor duración del estudio, tanto por seguridad del tratamiento a largo plazo como de sus efectos descritos [\(22\)](#).

Por otra parte, en otro estudio llevado a cabo por Ebrahim Bouchaki y colaboradores [\(23\)](#), aleatorizado, controlado con placebo en 60 pacientes con EM, y en el que se administraron cápsulas probióticas con *L. acidophilus*, *L. casei*, *Bifidobacterium* y *L. fermentum* durante 12 semanas, se observó una mejora en la escala de estado de discapacidad, síntomas depresivos y de ansiedad, reducción de proteína c-reactiva (marcador inflamatorio), metabolitos oxidativos plasmáticos y de malondialdeído (marcador de estrés oxidativo). Este estudio reporta resultados importantes pero que quedan limitados por el bajo tamaño muestral, además de que el tiempo de ensayo es muy limitado.

3.1.2. Tratamiento con Antibióticos.

La modificación del microbioma a través de medicamentos como antibióticos podría ser el método más simple y accesible de tratamiento, pero surgen varios problemas que cuestionan la viabilidad de este enfoque. Dirigirse a comensales

específicos resulta difícil y requiere una identificación adecuada de estos objetivos. Se han realizado ensayos con minociclina con resultados prometedores, desde dos puntos de vista. Por un lado, Carlos T Camara-Lemarro y colaboradores [\(24\)](#) notificaron que, desde el punto de vista de su acción antibiótica, esta puede alterar la microbiota intestinal, de forma que influiría en el sistema inmune al tener propiedades inmunomodificadoras [\(25\)](#). Pero el enfoque más interesante es desde un punto de vista puramente inmunomodificador, ya que se ha reportado en múltiples informes que la minociclina inhibe la actividad enzimática de la MMP, enzima que juega un gran papel en el mecanismo fisiopatológico de la EM, De hecho, la MMP se ha demostrado que se encuentra elevada en los pacientes afectados por dicha enfermedad [\(26\)](#). Esto tendría sinergia con el interferón beta, ya que dicho fármaco afecta a la síntesis de MMP, pero no influye directamente en la actividad enzimática, y este papel podría cumplirlo la minociclina en combinación con el interferón beta. En un estudio en modelo animal realizado por el Dr. V Wee Yong y colaboradores [\(27\)](#) se observó que, en los ratones tratados con minociclina durante el tiempo de inducción de la enfermedad, se retrasaba la aparición de síntomas clínicos. Aún así, estos sucumbieron a EAE cuando el protocolo resultó en una enfermedad grave. También se observó que se conseguía una mayor eficacia al administrar las dosis por vía intravenosa, lo que significa que su mecanismo de acción propio es efectivo de por sí, por lo que se necesitan más estudio para averiguar su sinergia con la microbiota.

CONCLUSIONES

Las conclusiones del presente trabajo son:

- La microbiota intestinal tiene un impacto a nivel fisiológico sobre el sistema inmunológico, por lo que podría ser una nueva vía de tratamiento para la esclerosis múltiple.

- Los alimentos y, por lo tanto, los elementos que los componen, afectan a nuestro sistema inmunológico, ya sea de forma directa o indirectamente a través de la microbiota. Esto supone una nueva forma de manejar la EM, cuyo tratamiento puede ser compatible con otros ya en uso, sin embargo, se necesitan más estudios y un mejor diseño de los mismos, para poder sacar alguna conclusión clara. Hay sustancias que parecen tener un mayor impacto, como el propionato o el NaCl y algunos que menos, como el triptófano, pero quizá esto dependa de otros aspectos porque cada estudio tiene un diseño diferente.

- El ayuno intermitente presenta unos resultados prometedores, pero necesita una muestra mucho mayor y una mayor duración. El problema de este método es su seguridad a largo plazo y la imposibilidad de hacer el estudio en doble ciego.

- Los tratamientos con probióticos y antibióticos pueden tener un efecto añadido a tratamientos ya en uso como el glatiramero acetato o el interferón beta. En cuanto a los probióticos se ha demostrado que, a corto plazo, según la composición de este probiótico, puede modificar la composición de la microbiota, así como disminuir la expresión de genes proinflamatorios, entre otros efectos. Con respecto a los antibióticos estos tienen un efecto por sí mismos y se ha de estudiar en mayor profundidad los efectos sobre la microbiota y sus implicaciones. En ambos casos se han de mejorar varios aspectos, sobre todo en su duración de administración para evaluar su efectividad y seguridad a largo plazo.

En general, se producen cambios en todas las intervenciones realizadas, pero se necesitan más estudios tanto en modelos animales como en humanos,

además de una duración y un tamaño muestral mucho mayor en los estudios que se planteen y que impliquen el manejo de la esclerosis múltiple.



BIBLIOGRAFÍA

1. <https://aedem.org/esclerosis-m%C3%BAltiple/tipos-de-esclerosis-m%C3%BAltiple>
2. Cuevas-García. C.F, Segura-Méndez.N.H, Herrera-Sánchez.D.A. Actualidades de la inmunopatología de la esclerosis múltiple. Gac Med Mex. 2018;154:588-597. Doi: 10.24875/GMM.18003407
3. Carabotti M, Scirocco A, Maselli MA, Severi C. The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. Ann Gastroenterol 2015; 28: 203-9.
4. Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, et al. Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. Proc Natl Acad Sci U S A 2011; 108: 16050-
5. Gómez-Eguílaz M, Ramón-Trapero J.L, Pérez-Martínez L, Blanco J.R. El eje microbiota-intestino-cerebro y sus grandes proyecciones. Rev neurol. 2019;68:111-117. Doi: 10.33588/rn.6803.2018223
6. Kim. S, Kim. H, Yim Y.S, Ha. S, Atarashi K, Tan T.G, et al. Maternal gut bacteria promote neurodevelopmental abnormalitis in mouse offspring. Nature. 2017;549(7673):528-532. Doi: [10.1038/nature23910](https://doi.org/10.1038/nature23910)
7. Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu X-N, et al. Post natal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. J Physiol. 2004;558(Pt1):263-75. Doi: [10.1113/jphysiol.2004.063388](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.063388)
8. Rutsch.A, John B. Kantsjo, Ronchi.F. The Gut-Brain Axis: How Microbiota and Host Inflammasome Influence Brain Phsiology and Pathology. Front. Immunol. 2020;11:2-4. Doi: [10.3389 / fimmu.2020.604179](https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.604179)
9. Perez-Burgos A, Wang B, Mao YK, Mistry B, McVey Neufeld KA, Bienenstock J, Kunze W. Psychoactive bacteria *Lactobacillus rhamnosus (JB-1)* elicits rapid frequency fecilitation in vagal afferents. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2013;304(2):211-220. Doi: 10.1152/ajpgi.00128.2012
10. Parodi.B, Kerlero de Rosbo.N. The Gut-Axis in Multiple Sclerosis. It its Dysfunction a Pathological Trigger or a Consequence of the Disease? Front Immunol. 2021;12:2-9. Doi: [10.3389/fimmu.2020.604179](https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.604179)

11. Regen T, Isaac S, Amorim A, Núñez N.G, Hauptmann J, Shanmugavadivu A, et al. IL-17 controls central nervous system autoimmunity through the intestinal microbiome. *Sci Immunol.* 2021;6(56). Doi: [10.1126/sciimmunol.aaz6563](https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aaz6563).
12. Cignarella.F, Cantoni.C, Ghezzi.L, Salter.A, Dorsett.Y, Chen.L, Fontana.L, et al. Intermittent fasting confers protection in CNS autoimmunity by altering the gut microbiota. *Cell Metab.* 2018;27(6):3-9. Doi: [10.1016/j.cmet.2018.05.006](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.05.006)
13. Haase.S, Wilck.N, Kleinewietfeld.M, N.Muller D, Ralf A.Linker. Sodium chloride triggers Th17 mediated autoimmunity. *J Neuroimmunol.* 2019;329:9-13. Doi: doi.org/10.1016/j.jneuroim.2018.06.016
14. Probstel AK, Zhou X, Baumann R, Wischnewski S, Kutza M, Rojas O.L, et al. Gut microbiota-specific IgA+ Bcells traffic to the CNS in active multiple sclerosis. *Sci Immunol.* 2021;5(53):3. Doi: [10.1126/sciimmunol.abc7191](https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abc7191)
15. Petta.I, Fraussen.J, Somers.V, Kleinewietfeld.M. Interrelation of Diet, Gut Microbiome and Autoantibody Production. *Front Immunol.* 2018;9:4-5. Doi: [10.3389/fimmu.2018.00439](https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00439)
16. Tobin.D, Vige.R, Calder.P.C. Review: The Nutritional Management of Multiple Sclerosis With Propionate. *Front Immunol.* 2021;12:2-6. Doi: [10.3389/fimmu.2021.676016](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.676016)
17. Jeongho P, Wang Q, Wu Q, Mao-Draayer Y, H. Kim C. Bidirectional regulatory potentials of short-chain fatty acids and their G-protein-coupled receptors in autoimmune neuroinflammation. *Sci Rep.* 2019;9:2-6. Doi: [10.1038/s41598-019-45311-y](https://doi.org/10.1038/s41598-019-45311-y)
18. Jana K.Sonner, Keil.M, Falk-Paulsen.M, Mishra.N, Rehman.A, Kramer.M, et al. Dietary tryptophan links encephalogenicity of autoreactive T cells with gut microbial ecology. *Nat Commun.* 2019;10:2-6. Doi: [10.1038/s41467-019-12776-4](https://doi.org/10.1038/s41467-019-12776-4)
19. Giacinto CD, Marinaro M, Sanchez M, Strober W, Boirivant M. Probiotics ameliorate recurrent Th1-mediated murine colitis by inducing IL-10 and IL-10-dependent TGF-beta-bearing regulatory cells. *J immunol.* 2005;174(6):3237-46. Doi: [10.4049/jimmunol.174.6.3237](https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.6.3237).
20. Barletta B, Rossi G, Schiavi E, Butteroni C, Corinti S, Boirivant M, et al. Probiotic VSL#3-induced TGF-beta ameliorates food allergy inflammation in a mouse modelo f

peanut sensitization through the induction of regulatory T cells in the gut mucosa. *Mol Nutr Food*. 2013;57(12):2233-44. Doi: [10.4049/jimmunol.174.6.3237](https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.6.3237).

21. Tankou.S.K, Regev.K, Brian C.Healy., Tjon.E, Laghi.L, Laura M.Cox, et al. A probiotic modulates the microbiome and immunity in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2018;83(6):1147-1161. Doi: [10.1002/ana.25244](https://doi.org/10.1002/ana.25244)

22. Tankou SK, Regev K, Healy BC, Cox LM, Tjon E, Kivisakk P, et al. Investigation of probiotics in multiple sclerosis. *MSJ*. 2018;24(1):3-4. Doi: doi.org/10.1177/1352458517737390

23. Kouchaki E, Tamtaji OR, Salami M, Bahmani F, Kakhaki RD, Akbari E, et al. Clinical and metabolic response to probiotic supplementation in patients with multiple sclerosis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Nutr*. 2017;36:1245-1249. Doi: doi.org/10.1016/j.clnu.2016.08.015

24. Camara-Lemarrov CR, Metz L, Meddings JB, Sharkey KA, Yong VW. The intestinal barrier in multiple sclerosis: implications for pathophysiology and therapeutics. *Brain*. 2018;141(7):1900-1916. Doi: [10.1093/brain/awy131](https://doi.org/10.1093/brain/awy131)

25. R. Camara-Lemarrooy.C, Metz.M.L, Wee Yong. V. Focus on the gut-brain axis: Multiple sclerosis, the intestinal barrier and the microbiome. *World J. Gastroenterol*. 2018;24(37):4217-4223. Doi: [10.3748/wjg.v24.i37.4217](https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i37.4217)

26. Yong VW, Power C, Forsyth P, Edwards D.R. Metalloproteinases in biology and pathology of the nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 2001;2:502-5011. Doi: <https://doi.org/10.1038/35081571>

27. Wee Yong V, Wells.J, Giuliani.F, Casha.S, Power.C, Luanne M Metz. The promise of minocycline in neurology. *Lancet Neurol*. 2004;3(12):744-51. Doi: [10.1016/S1474-4422\(04\)00937-8](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(04)00937-8)