

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ
FACULTAD DE MEDICINA
TRABAJO FIN DE GRADO EN MEDICINA**



**ESTRATEGIAS DE MODULACIÓN DEL
MICROBIOMA INTESTINAL COMO TERAPIA
COADYUVANTE EN ENFERMEDAD DE CROHN**

AUTOR: VICENTE BALLESTER, JOSE

TUTORA: CAPARRÓS CAYUELA, ESTHER

DEPARTAMENTO Y ÁREA: Dpto. Medicina Clínica. Área de
Inmunología

CURSO ACADÉMICO: 2023-2024

CONVOCATORIA: JUNIO

A mis compañeros y amigos, por enseñarme durante estos seis (cortos) años que en ocasiones para encontrar la verdadera Medicina hay que levantar la vista de los libros y salir de las bibliotecas. Os agradezco cada minuto de este viaje tan intenso al que ya pongo punto pero no final. Habéis sido un apoyo incondicional tanto en los buenos momentos como en aquellos en los que sentía que el mundo se venía abajo,

de igual modo que espero serlo yo para mis futuros pacientes.



ÍNDICE

1. RESUMEN / ABSTRACT.....	4
2. ABREVIATURAS.....	6
3. INTRODUCCIÓN.....	7
4. HIPÓTESIS.....	12
5. OBJETIVOS.....	13
6. MÉTODOS.....	13
7. RESULTADOS.....	15
a. TRASPLANTE DE MICROBIOTA FECAL.....	15
b. PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS.....	23
8. CONCLUSIONES.....	27
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28

RESUMEN

La disbiosis intestinal es una situación proinflamatoria caracterizada por un desequilibrio en la microbiota de la mucosa del intestino. Esta alteración se ha relacionado durante los últimos años con la patogénesis de la Enfermedad de Crohn (EC), llegando a proponerse como el nexo de unión entre la susceptibilidad genética individual y los factores ambientales, al encontrar una disminución de la biodiversidad en la flora intestinal, con reducción en especies con propiedades antiinflamatorias en estos pacientes. Nos planteamos, por tanto, revisar diferentes estrategias capaces de reestablecer el equilibrio en la microbiota como método de tratamiento complementario en adultos con EC. Para ello realizamos una revisión bibliográfica mediante una estrategia de búsqueda en diferentes bases de datos científicas. Nos centramos en los mecanismos inmunológicos detrás de procedimientos como el trasplante de microbiota fecal (TMF) y el uso de productos probióticos y prebióticos; así como en la evidencia disponible de sus resultados en el control de la enfermedad. Hasta la fecha no se han demostrado resultados positivos consistentes en ninguna de las estrategias aquí revisadas, si bien el empleo de TMF mostró efectos más prometedores en la reducción de la inflamación y el aumento de diversidad bacteriana. Nuevos ensayos aleatorizados con un adecuado planteamiento son necesarios para aumentar la evidencia hasta ahora disponible.

ABSTRACT

Intestinal dysbiosis is a pro-inflammatory situation characterized by an imbalance in the microbiota of the intestinal mucosa. This alteration has been recently related to the pathogenesis of Crohn's Disease (CD), being proposed as the link between individual genetic susceptibility and environmental factors, finding a decrease in biodiversity in the intestinal flora, with a reduction in species with anti-inflammatory properties in these patients. We therefore propose to review different strategies capable of reestablishing balance in the microbiota as a complementary treatment method in adults with CD. In order to do this, we carried out a bibliographic review using a search strategy in different scientific databases. We focus on the immunological mechanisms behind procedures such as fecal microbiota transplantation (FMT) and the use of probiotic and prebiotic products, as well as the available evidence of its results in the control of the disease. Thus far, no consistent positive results have been demonstrated in any of the strategies reviewed here, although the use of FMT showed more promising effects in reducing inflammation and increasing bacterial diversity. New randomized trials with an appropriate approach are necessary to increase the evidence so far available.

ABREVIATURAS

AhR	Receptor de Aril hidrocarburo
AGCC	Ácidos Grasos de Cadena Corta
APC	Célula Presentadora de Antígeno
CDAI	Índice de actividad de la Enfermedad de Crohn
CDEIS	Índice de Severidad Endoscópica de la Enfermedad de Crohn
CU	Colitis Ulcerosa
DME	Diferencia de Medias Estandarizada
EC	Enfermedad de Crohn
EII	Enfermedad Inflamatoria Intestinal
IFN	Interferón
IL	Interleucina
MHC	Complejo Mayor de Histocompatibilidad
PCR	Proteína C reactiva
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
SI	Sistema Inmune
TGF-β	Factor de Crecimiento transformante beta
TJP	Proteínas de union estrecha
TMF	Trasplante de Microbiota Fecal
TLR	Receptores tipo <i>Toll</i>

INTRODUCCIÓN

El sistema inmune (SI) es un complejo formado por diferentes componentes celulares, moleculares y genéticos, estrechamente interrelacionados, diseñados para la defensa del huésped ante microorganismos, sustancias extrañas y células nativas anómalas.

A nivel gastrointestinal, el SI está en constante comunicación bidireccional con la microbiota intestinal. Este concepto hace referencia a una compleja comunidad ecológica integrada por billones de microorganismos que habitan en el tracto gastrointestinal y que, a través de interacciones con el organismo y actividades metabólicas colectivas, influyen en el funcionamiento normal del huésped (protegiendo frente a patógenos, obteniendo nutrientes y energía de la dieta, y favoreciendo el desempeño inmune óptimo). (1)

Los estudios de secuenciación demuestran una amplia biodiversidad, que es altamente variable entre individuos de diferentes poblaciones. A pesar de ello, a nivel de taxones superiores se habla de una dominancia de *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, mientras que *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia* también son frecuentes, pero en menor proporción. Adicionalmente contamos con arqueas, hongos (sobre todo levaduras) y virus (principalmente fagos). (1)

No obstante, la composición de la microbiota intestinal también puede influir en la susceptibilidad a enfermedades, en concreto, en las situaciones en las que hay un desequilibrio entre la composición cuantitativa y/o cualitativa de los microorganismos que la componen, situación que conocemos como disbiosis. Son muchos los aspectos

del estilo de vida actual que tienen un impacto directo en el microbioma intestinal y que actúan, por tanto, como agentes facilitadores de la disbiosis: antibióticos (entre otros medicamentos), enfermedades, estancias hospitalarias, cirugías, tabaquismo, alcoholismo, estrés crónico y dietas con exceso de carbohidratos refinados y ultraprocesados bajos en fibras fermentables. (1,2)

La disbiosis intestinal es una situación que ha ganado peso y atención en los últimos años en la comprensión de la patogénesis de diferentes enfermedades (gracias a la aparición de técnicas de secuenciación masiva). Entre ellas destaca la Enfermedad de Crohn (EC), uno de los dos trastornos principales que componen la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII).

La EC se caracteriza por una inflamación transmural crónica del tracto digestivo, pudiendo afectar a cualquier parte del mismo (boca-ano) y que sigue típicamente un patrón asimétrico y parcheado. Pese a que la patogénesis de esta enfermedad sigue sin ser del todo comprendida, la literatura apunta cada vez con más fuerza a una posible asociación entre factores microbianos alterados (disbiosis) y del huésped (susceptibilidad genética) en el desarrollo de la enfermedad, lo que conduciría a respuestas inmunes aberrantes e inflamación intestinal crónica. (3)

Mediante el empleo de técnicas independientes de cultivo se ha estudiado y comparado el perfil de microbiota intestinal en individuos sanos y en pacientes recientemente diagnosticados de EC, encontrándose en estos últimos cambios tanto en las cepas como en la diversidad de especies microbianas, con una disminución de *Bacteroides* y *Firmicutes* y el aumento de *Actinobacteria* y *Gammaproteobacteria*. Destaca además la

reducción de bacterias con propiedades antiinflamatorias conocidas como *Faecalibacterium prausnitzii* y *Roseburia intestinalis*. (4)

Un aspecto no del todo resuelto a día de hoy es si las alteraciones en el microbioma intestinal constituyen una causa impulsora de la EC, o bien una consecuencia del estado crónico inflamatorio. Si bien es cierto que la inflamación es un factor capaz de alterar la homeostasis microbiana, y que estrategias antiinflamatorias como los anti-TNF o la nutrición enteral exclusiva son capaces de disminuir el grado de disbiosis, actualmente cobra más fuerza la hipótesis de que las alteraciones del microbioma contribuyen al inicio y/o mantenimiento de la inflamación intestinal. Algunas observaciones extraídas tanto de estudios en modelos animales como en humanos que apoyarían esta corriente son (2, 5):

- Independientemente del fracaso en las defensas antimicrobianas, la disbiosis es capaz de transmitir una ileítis similar a la observada en EC en ratones sanos después de recibir microbiota de ratones con colitis.
- Los ratones con predisposición a desarrollar colitis (déficit de IL-2 e IL-10) están protegidos si se desarrollan en ambientes libres de gérmenes.
- La colonización de microbiota fecal de pacientes con EC en ratones humanizados es capaz de inducir un patrón inflamatorio en el intestino de estos roedores similar al de los pacientes.
- En seres humanos, la actividad inflamatoria de la enfermedad es más intensa en áreas de mayor concentración microbiana (como el colon) y donde existe un estancamiento relativo del material intestinal (como el íleon terminal y el recto).

- Los pacientes EC intervenidos mediante desviación fecal experimentan una remisión de la enfermedad en el segmento de intestino excluido del tránsito fecal. Además, son capaces de desarrollar recurrencia de la enfermedad en el íleon proximal a la anastomosis y tras la restauración de la continuidad intestinal, desencadenada por el contacto con el flujo fecal.

Los mecanismos por los que la disbiosis intestinal podría influir en el desarrollo de ileítis es también foco de estudio actual. En primer lugar, los estados alterados de la comunidad microbiana intestinal a largo plazo y el estado proinflamatorio local se han relacionado con la ruptura de la barrera protectora intestinal y el aumento patológico en la translocación bacteriana. El exceso de permeabilidad intestinal así mismo, se ha caracterizado recientemente como un factor de riesgo clave en el desarrollo de EC, precediendo hasta en 3 años la aparición de la enfermedad (Figura 1) (6).

Por otro lado, se han relacionado las alteraciones en la microbiota y sus metabolitos con modificaciones epigenéticas capaces de inducir inflamación intestinal. Uno de los ejemplos mejor caracterizados es el de los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), producidos por los taxones *Bacteroides* y *Firmicutes*, y cuya producción se ha observado que disminuye en pacientes con EC. Estas moléculas son capaces de inducir tolerancia local estimulando la diferenciación de linfocitos T reguladores y la regulación negativa de citoquinas proinflamatorias en los macrófagos (Figura 1) (2, 4).

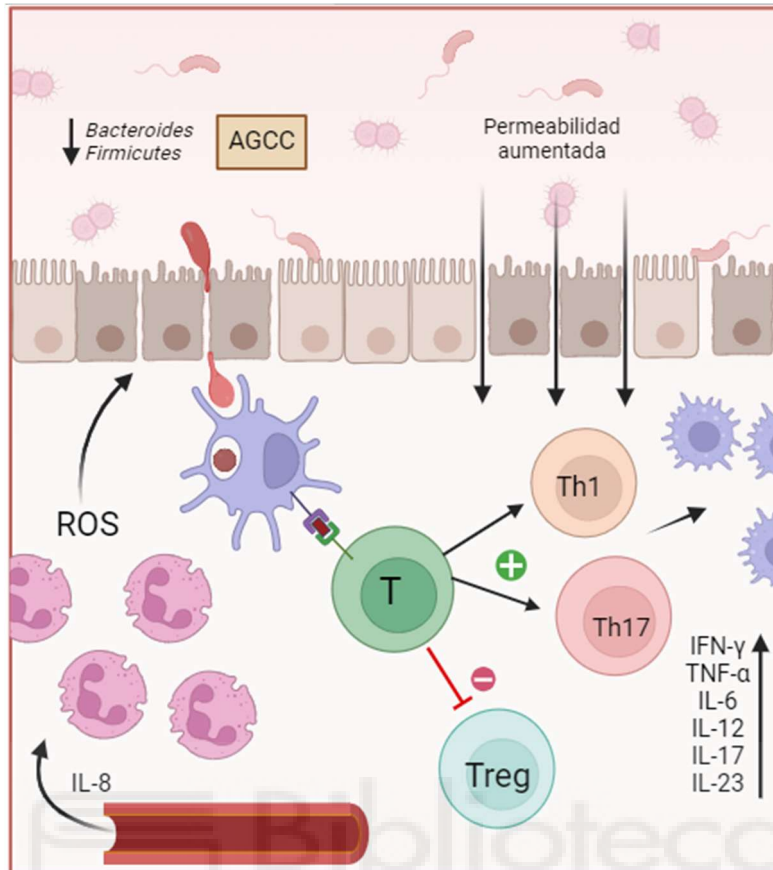


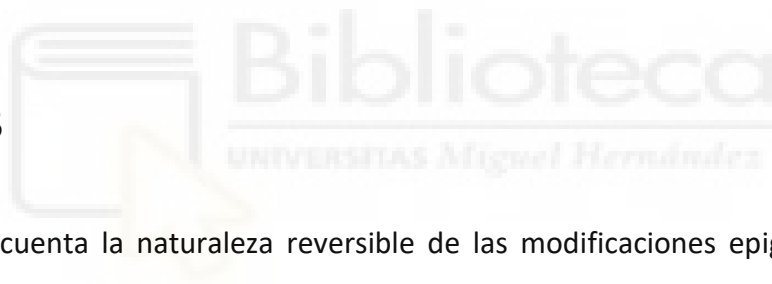
Figura 1. Esquema de los cambios proinflamatorios en la mucosa intestinal derivados de la disbiosis en un paciente con predisposición genética. Elaboración propia.

La ruptura de la barrera intestinal asociada a la disbiosis ocasiona un aumento patológico de la traslocación bacteriana. Las células presentadoras de antígenos (APC) de la lámina propia procesan los antígenos bacterianos y activan a células T. En pacientes predispuestos y debido a modificaciones epigenéticas asociadas también a la alteración microbiana se desarrolla una respuesta Th1 y Th17, en detrimento de la respuesta tolerogénica Treg. Se produce un aumento de citocinas proinflamatorias, con reclutamiento de neutrófilos que generan especies reactivas de oxígeno (ROS) lesionando aún más el epitelio; y activación macrofágica.

Como se muestra, la microbiota intestinal modula los mecanismos inmunes patológicos que conocemos en la EC y, en un estado alterado, podría ser el nexo de unión entre la susceptibilidad genética y los factores ambientales y de estilo de vida que se relacionan con la enfermedad.

Los tratamientos médicos que clásicamente se han empleado en esta enfermedad dependen en gran medida de la localización anatómica de la enfermedad, su gravedad y el objetivo del tratamiento (inducción o mantenimiento de la remisión), e incluyen los 5-aminosalicilatos orales (como la sulfasalazina y mesalamina), los glucocorticoides (como budesonida) y los inmunomoduladores (como la azatioprina o el metotrexato). Además, en los últimos años las terapias biológicas (como los anticuerpos anti-TNF, los anti-IL12/23, los anti-integrina y los inhibidores de JAK) han supuesto todo un avance en el manejo de la EII, sobre todo de los casos más graves (7). No obstante, no existe todavía ninguna terapia claramente indicada en las guías que se dirija específicamente a la modulación de la disbiosis intestinal descrita en estos pacientes.

HIPÓTESIS



Teniendo en cuenta la naturaleza reversible de las modificaciones epigenéticas y la contribución al mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal por parte de una microbiota eubiótica, se sugiere que los tratamientos cuyo objetivo vaya dirigido al restablecimiento del equilibrio en el microbioma intestinal podrían añadir un beneficio adicional a los tratamientos clásicos en pacientes con EC.

OBJETIVOS

1. Investigar los efectos inmunológicos del Trasplante de Microbiota Fecal (TMF) sobre un microbioma intestinal alterado y justificar su empleo en EC.

2. Exponer la evidencia recabada hasta la fecha sobre la eficacia del TMF en pacientes con EC.

3. Conocer los efectos sobre la composición de la microbiota intestinal de otras intervenciones como el uso de probióticos y prebióticos en pacientes con EC y su eficacia en el control de la enfermedad como complemento al tratamiento habitual.

MÉTODOS

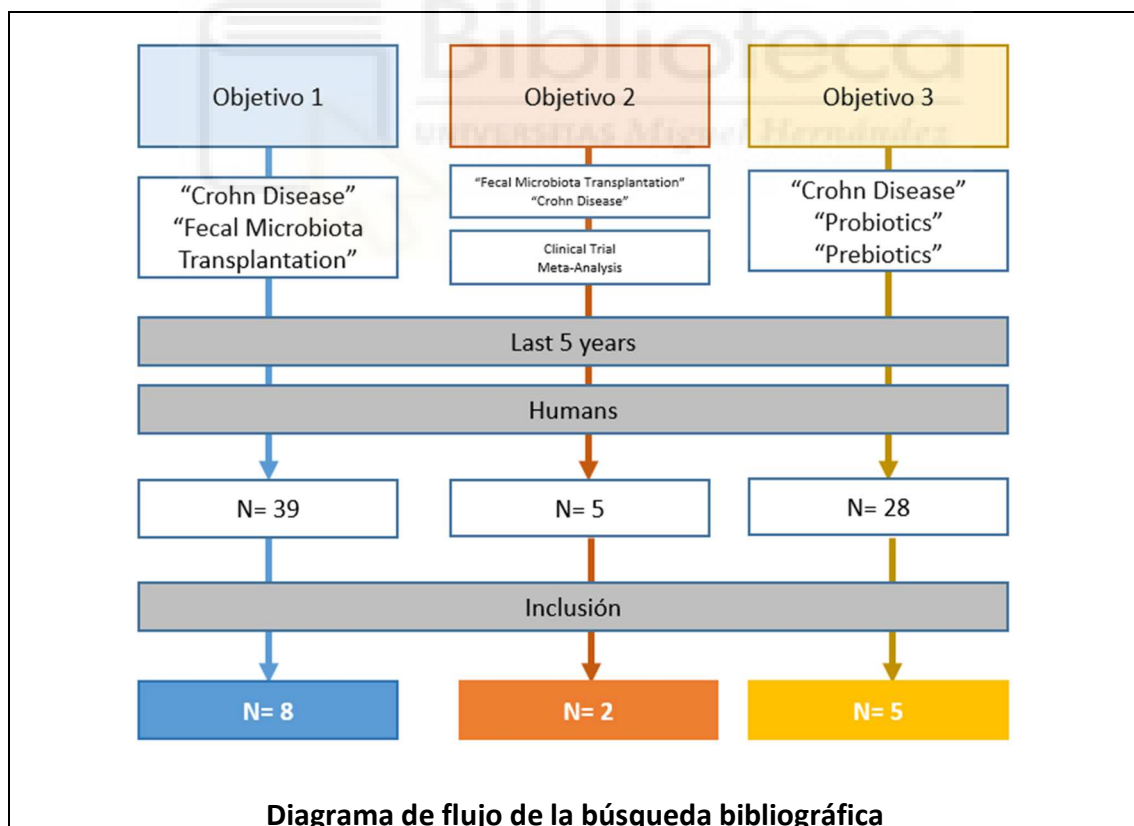
Con la intención de corroborar la hipótesis y cumplir con los objetivos anteriormente expuestos se llevó a cabo una revisión bibliográfica. Se investigó la evidencia hasta la fecha del papel de la disbiosis intestinal en la patogénesis de la Enfermedad de Crohn y las diferentes estrategias para modular la microbiota intestinal alterada, así como su nivel de eficacia y posibilidad de empleo en un futuro cercano en el manejo de esta enfermedad.

Para ello se diseñaron diferentes ecuaciones de búsqueda siguiendo una estrategia por objetivos. Se consultó la base de datos MEDLINE a través del buscador PubMed, así como las bases de datos de Scopus y SciElo, y la biblioteca Cochrane.

Para el *objetivo número 1* se empleó una ecuación de búsqueda en las diferentes bases de datos con los descriptores “*Crohn Disease*” AND “*Fecal Microbiota Transplantation*” y se filtraron los resultados indexados en los últimos 5 años en humanos. Se obtuvieron 39 resultados, que más tarde se redujeron a 8 tras eliminar los artículos duplicados en diferentes bases y aquellos que no se adecuaban al objetivo de la búsqueda. Por otro lado, para el *objetivo número 2* se empleó la misma búsqueda bibliográfica, aunque en

este caso se seleccionaron únicamente ensayos clínicos aleatorizados en humanos y metanálisis publicados en los últimos 5 años, obteniéndose 5 resultados, de los cuales tras una revisión inicial se seleccionaron finalmente 2 por su adecuación al tema tratado y grado de actualización. Finalmente, para el *objetivo número 3* se emplearon las ecuaciones “Crohn Disease” AND “Probiotics” y “Crohn Disease” AND “Prebiotics”, filtrándose igualmente los resultados. Se obtuvieron 28 resultados, reduciéndose a 5 tras la eliminación de los duplicados y aquellos que no cumplieran con el objetivo de la búsqueda.

Además, para facilitar la lectura y comprensión del texto se empleó la herramienta online *Biorender* para el diseño de figuras que lo acompañasen.



RESULTADOS

TRASPLANTE DE MICROBIOTA FECAL

El trasplante de microbiota fecal (TMF) es un procedimiento basado en la infusión de heces procedentes de un donante sano en el tracto gastrointestinal de un receptor, con el objetivo de tratar una enfermedad en cuyo desarrollo está implicada la alteración del microbioma del intestino (8). Pese a ser un procedimiento que ha captado gran interés en la actualidad, debemos remontarnos hasta el siglo IV para hallar su origen en China, donde un primer rudimento de lo que es la técnica actual se empleaba como remedio oral en el tratamiento de intoxicaciones alimentarias graves y la diarrea (9).

Actualmente, existe indicación clara de empleo del TMF en el tratamiento de la infección recurrente por *Clostridium difficile*, con tasas de eficacia de hasta el 90% (8,9), tal y como han demostrado un gran número de ensayos clínicos aleatorizados, revisiones sistemáticas y metanálisis, y como respalda la *Conferencia de consenso europeo sobre el TMF en la práctica clínica* (8). No obstante, y teniendo en cuenta el éxito de esta terapia en la indicación descrita, cada vez son más las patologías relacionadas con disbiosis que se suman a la lista de posibles candidatas a la terapia de TMF. Entre ellas destacan los trastornos hepáticos, el síndrome metabólico e, indudablemente, la EII. (8)

Los mecanismos por los que se piensa que el TMF podría ser beneficioso en este trastorno incluirían el potencial reparador de la barrera intestinal, limitando la permeabilidad aumentada e inhibiendo la apoptosis de células epiteliales; la síntesis de factores antiinflamatorios; la restauración del metabolismo intestinal de los ácidos biliares secundarios; la competencia con bacterias patógenas (aunque los estudios en

pacientes con EII e infección por *C. difficile* apuntan a que la microbiota en estos sería más resistente que en pacientes sin EII), y la mejoría de la insulinoresistencia.(10, 11)

No obstante, las consecuencias inmunológicas de la terapia con TMF en la EII en general y en la EC en concreto todavía han sido poco estudiadas, ya que los investigadores se han centrado más en el análisis del cambio microbiano en el intestino, observando un aumento en la diversidad α en el microbioma de los pacientes receptores tras el trasplante, con una transición del perfil microbiano hacia el del donante (Figura 2) (12, 13). No obstante, sí que se ha podido obtener conocimiento de tipo indirecto sobre las interacciones SI-microbiota beneficiosas que modularían las respuestas inflamatorias alteradas en esta enfermedad, llegando algunos autores a relacionar taxones específicos con beneficios clínicos. (12)

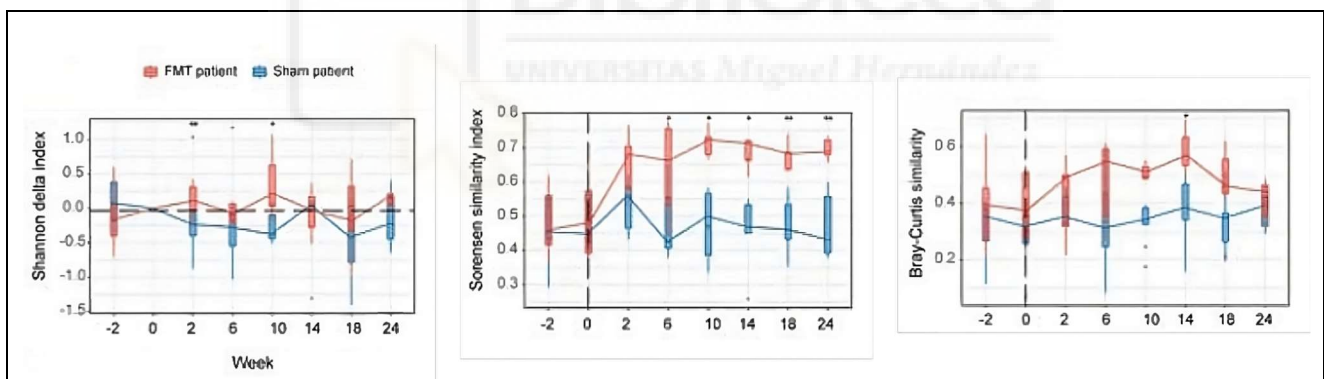


Figura 2. Cambios en el perfil de microbiota intestinal en pacientes con EC tras ser sometidos a un TMF (rojo) o bien a un trasplante simulado (azul), del estudio de Kong L. et al (13)

Se observa un aumento transitorio en la diversidad α (índice de Shannon, derecha) hasta la semana 14 en los pacientes TMF en comparación con los pacientes control. El índice de Sorensen (centro) muestra un aumento en la similitud de especies bacterianas entre donante y receptor en los pacientes que recibieron el trasplante, lo cual indica un injerto exitoso y que además se mantuvo en el tiempo. También, aunque de manera menos evidente, el índice de Bray-Curtis (izquierda) muestra cambios en la abundancia relativa de cada una de las especies, con un mayor acercamiento al perfil del donante en pacientes TMF.

La evidencia recogida hasta la fecha de cambios inmunológicos se centra sobre todo en estudios con modelos de ratón con colitis inducida y tratados con TMF de ratones sanos. En primer lugar, el TMF se ha podido relacionar con un aumento en la síntesis de péptidos antimicrobianos tales como el péptido antimicrobiano catelicidina (Camp), S100A8, defensinas específicas, inmunoglobulina A secretora y mucina. Por otro lado, en muestras de biopsia de colon se ha objetivado una disminución en la población de células presentadoras de antígenos, incluidos neutrófilos y macrófagos, con una regulación positiva de las células T reguladoras, células T CD4 secretoras de interleucina IL-10 y células T CD4 circulantes que se dirigen al intestino tras el tratamiento. Por tanto, se produce un incremento en la producción de IL-10 y también del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y una disminución de las citocinas de perfil proinflamatorio (TNF- α , IFN- γ e IL-1 β) (12, 14). También se observa una regulación negativa de la presentación dependiente del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC)-II de antígenos bacterianos a través de células dendríticas después de la administración de TMF. Estos hallazgos se asocian con una mejora de la inflamación intestinal (Figura 3) (12).

De todo ello los investigadores destacan la inducción de linfocitos Treg y la expresión de IL-10 como la evidencia más sólida en el papel antiinflamatorio del TMF. Estas células llevan a cabo un papel destacado en los organismos vivos en el mantenimiento de la homeostasis inmunitaria, suprimiendo la síntesis y secreción de citoquinas de perfil inflamatorio e induciendo tolerancia periférica. (12,14)

En concreto, se ha observado que el tono inmunológico proinflamatorio que se inducía en ratones libres de gérmenes tras ser trasplantados por microbiota de individuos con

Ello podía ser revertido por un subconjunto de células Treg con alta potencia inmunorreguladora (ROR γ t+ Treg) tras un TMF. (14)

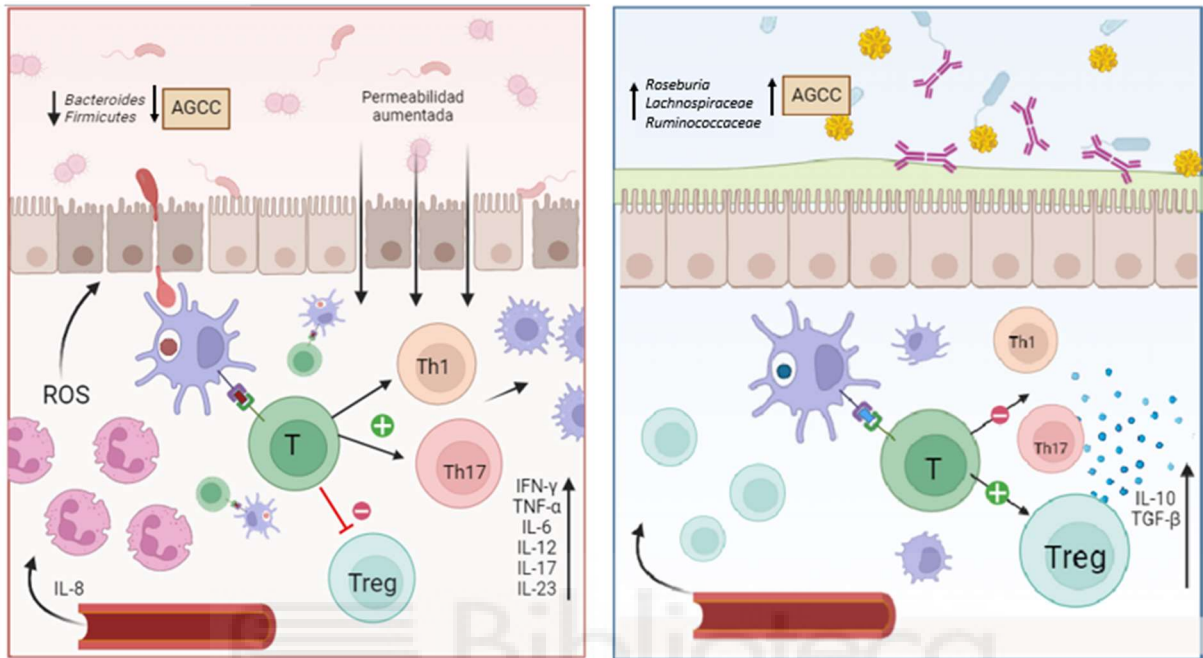


Figura 3. Esquema ilustrativo de los efectos locales del TMF en la mucosa intestinal (derecha) en comparación con el microambiente inflamatorio previo al trasplante (izquierda). Elaboración propia.

La evidencia recoge diversos efectos inmunomoduladores derivados del TMF, entre ellos destaca el restablecimiento de la capa de mucina, con una mayor producción de IgA y péptidos antimicrobianos, disminuyendo la traslocación bacteriana patológica. Se observa también una disminución de neutrófilos y APC (macrófagos y células dendríticas) en la lámina propia, y por tanto menor presentación de antígenos dependiente del MHC-II. Por último, existe una regulación positiva del fenotipo Treg, con aumento de las citocinas tolerogénicas y disminución de las proinflamatorias.

Las células Treg pueden inducirse mediante productos del metabolismo bacteriano como los AGCC, los derivados del triptófano y el PSA (polisacárido A). En primer lugar, los AGCC producen una inhibición de las enzimas deacetilasas de las histonas, lo que aumenta la actividad del factor de transcripción FoxP3, imprescindible en el

establecimiento del fenotipo Treg. Por otro lado, los metabolitos bacterianos del triptófano activan el receptor del aril hidrocarburo (AhR) reprogramando las células T-helper intraepiteliales en células tolerogénicas, inhibiendo el desarrollo de un fenotipo Th17 proinflamatorio (Figura 4) (12, 15).

De esta manera, se piensa que el aumento de esta población de linfocitos en la mucosa y ganglios linfáticos intestinales estaría favorecido por la ganancia de grupos específicos de Clostridium que incluyen las familias productoras de AGCC *Ruminococcaceae* y *Lachnospiraceae* y el género *Roseburia*. (9)

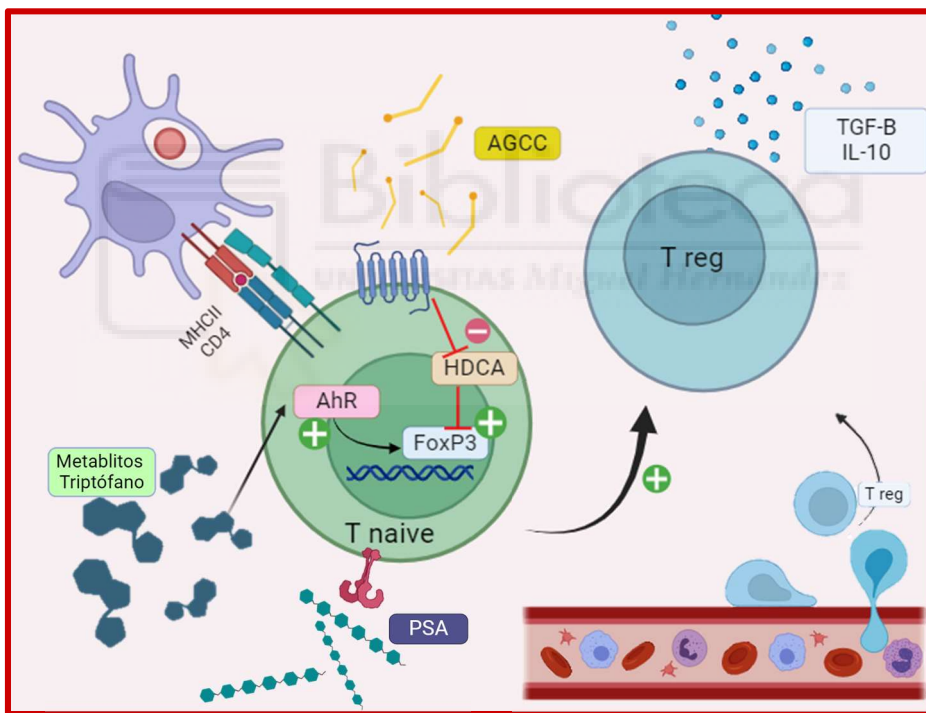
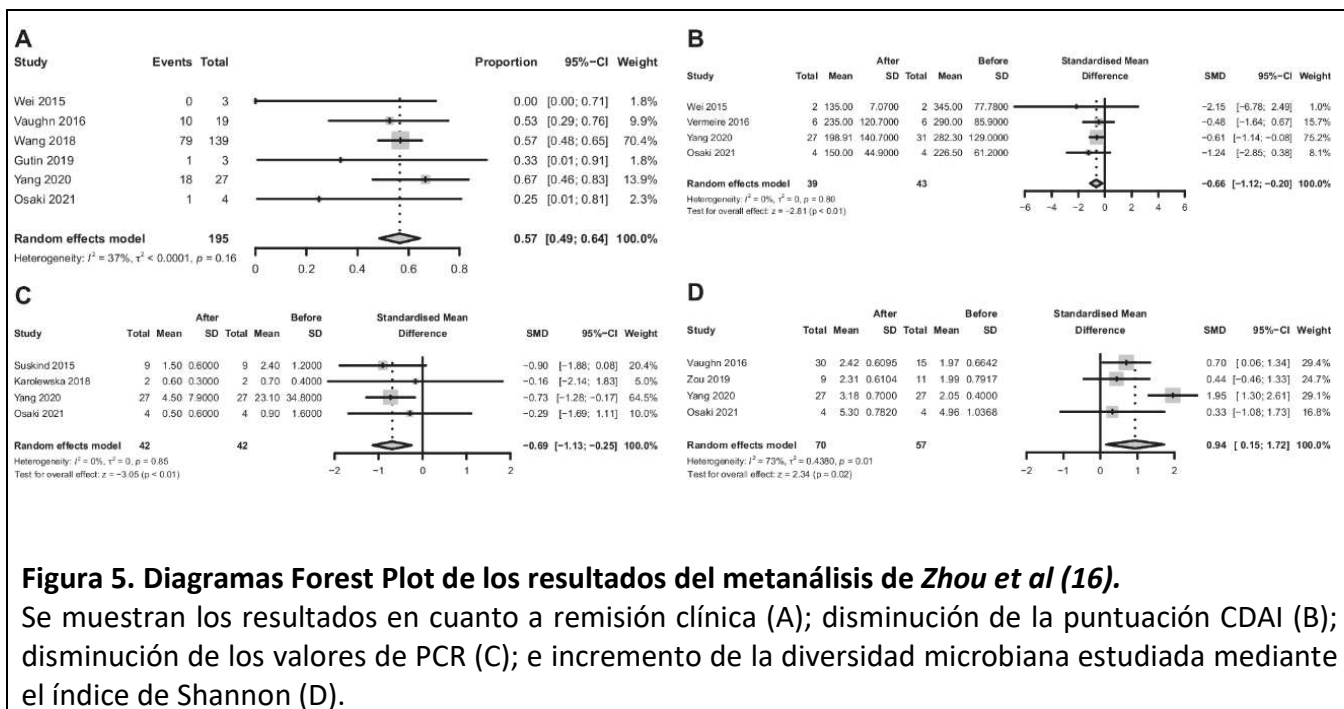


Figura 4. Mecanismos moleculares en la inducción de linfocitos T reguladores por parte de diferentes metabolitos bacterianos. Elaboración propia.

Los AGCC producidos por bacterias como *F. prausnitzii* activan un receptor de membrana asociado a proteína G de la membrana de los linfocitos T naíve, inhibiendo la enzima desacetilasa y produciéndose una mayor acetilación de las histonas del gen FoxP3, aumentando su expresión y una diferenciación hacia el fenotipo Treg. La activación del receptor AhR por parte de los metabolitos del triptófano (quineurinas) también consigue una mayor expresión del gen. El PSA también favorece el perfil Treg mediante la activación del receptor tipo Toll 2.

La evidencia del impacto del TMF en humanos con EII publicada hasta el momento se ha centrado sobre todo en la CU, demostrando una moderada superioridad en comparación con el placebo. En cuanto a la EC, la literatura en humanos es escasa y se basa sobre todo en series pequeñas de pacientes, así como pequeños estudios abiertos no controlados en los que se sugiere un efecto beneficioso en la inducción de la remisión clínica y/o endoscópica de la enfermedad activa.

En un metanálisis publicado recientemente (16) que pretendía resumir la evidencia obtenida hasta la actualidad, se evaluaron diferentes variables relacionadas con la eficacia y seguridad del TMF en estos pacientes. El análisis conjunto de seis estudios que incluyó un total de 165 pacientes mostró que 57% de los pacientes (IC del 95 % = 49 a 64 %) lograron la remisión clínica de 2 a 4 semanas tras el procedimiento. Además también mostró una reducción significativa en las puntuaciones de actividad de la enfermedad medidos con el índice CDAI (Índice de Actividad de la Enfermedad de Crohn) (Diferencia de medias estandarizadas, DME = -0,66; IC del 95 % = -1,12 a -0,20) después de 4 a 8 semanas; los valores de la Proteína C reactiva (PCR) medidos a las 2 semanas (DME = -0,69; IC del 95 % = -1,13 a -0,25); y un aumento en los índices de Shannon de diversidad microbiana (DME = 0,94; IC del 95 % = 0,15 a 1,72) (Figura 5).



Hasta la fecha se ha publicado un único estudio aleatorizado que evalúe el efecto del TMF en EC (17). Se trata de un estudio multicéntrico, aleatorizado, simple ciego y controlado con placebo en pacientes con afectación colónica o ileo-colónica, en quienes previamente se había conseguido la remisión clínica mediante el uso de corticosteroides; y cuyo objetivo primario era la colonización exitosa de la microbiota del trasplante a las 6 semanas. Se trata por tanto de un enfoque diferente al de resto de estudios, ya que en este caso la estrategia iba dirigida a dos de los componentes de la patogénesis de la enfermedad, tanto al control del componente inmunológico (a través del uso de esteroides) como a la microbiota (con el posterior empleo del TMF). A pesar de que ninguno de los pacientes incluidos en el estudio alcanzó el objetivo primario, esto podría deberse a que el criterio para establecer el éxito de la colonización se estableció en 2012 de manera arbitraria, ya que no existía aún una orientación de la literatura como la actual. No obstante, sí que se alcanzaron otros criterios considerados

clínicamente relevantes, como el CDEIS (Índice de Severidad Endoscópica de la Enfermedad de Crohn) y los niveles PCR. Además, los pacientes en los que se logró un injerto exitoso del trasplante tuvieron una menor tasa de brotes ($p=0,054$) y una mayor tasa de remisión clínica sin esteroides en la semana 10, en comparación con el grupo placebo (100% vs 44,4%, $p=0,04$).

La evidencia hasta ahora publicada nos hace pensar que el TMF podría ser una modalidad prometedora para inducir y/o mantener la remisión clínica y mejorar los índices de la enfermedad, los marcadores bioquímicos y la diversidad microbiana en pacientes con EC. No obstante, se trata de un enfoque de tratamiento aún en un estadio de desarrollo precoz, requiriéndose más ensayos aleatorios controlados con placebo de alta calidad y con un seguimiento a largo plazo que puedan apoyar los resultados hasta ahora vistos.

Por otro lado, la realización de más estudios microbiológicos sobre el efecto del TMF sobre el microbioma intestinal en estos pacientes podría darnos más información sobre los mecanismos moleculares que median su acción inmunorreguladora y reparadora de la mucosa.

Estas cuestiones, así como otras relacionadas con los aspectos técnicos del procedimiento (la cantidad de trasplantes necesaria, el modo de entrega, la preparación previa o el número ideal de donantes por trasplante) son las que futuras investigaciones deberían abordar para poder considerar el TMF una estrategia más en el control de la EC en un futuro cercano.

PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS

El uso de productos probióticos y el aprovechamiento de sus beneficios se remontan ya a la antigüedad con el consumo de derivados de la leche fermentada como el yogur y el queso (18). Aunque en el pasado la definición de estos productos estuvo sujeta a cierta ambigüedad, actualmente la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP) nos ofrece una definición más exacta de los mismos, siendo los probióticos *“microorganismos vivos que, cuando se ingieren en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped”* (19). Existen, por tanto, diferencias considerables con respecto al TMF en cuanto a que los probióticos se deben caracterizar a nivel de cepa siendo por tanto un producto más específico, mientras que en el TMF la gama de microorganismos transferida es más amplia, por ser la que se encuentra de manera natural en las heces del donante. Por su parte, la ISAPP define los prebióticos como los *“sustratos que son utilizados selectivamente por los microorganismos del huésped y que confieren un beneficio para la salud”* (20).

La capacidad demostrada de estos dos enfoques a la hora de ejercer acciones inmunomoduladoras y restauradoras del equilibrio microbiano y el hecho de que se haya identificado una reducción de cepas probióticas beneficiosas en las heces de pacientes con EII han hecho que aumente el interés por su empleo como terapia de mantenimiento complementaria en estos (21). Además, su uso se ha extendido ya en el tratamiento de otros trastornos digestivos como el Síndrome de Intestino Irritable, donde la disbiosis intestinal se ha relacionado también con su patogenia (22).

Los géneros *Bifidobacteria*, *Lactobacillus* y *Saccharomyces* son probablemente los más empleados en productos probióticos (22). Además existen cepas concretas que se

postulan como posibles candidatas para su futuro empleo en este contexto, como *A. muciniphila*, *F. prausnitzii*, *B. longum*, *L. plantarum*, *L. lactis* y *L. casei* (21, 22, 23). Por otro lado, los prebióticos principales son fibras dietéticas solubles como los fructanos, galactooligosacáridos y oligosacáridos derivados del almidón y la glucosa entre otros (a pesar de que también existen los no derivados de carbohidratos, como los flavanoles) (18).

Uno de los efectos que tanto prebióticos como probióticos buscan es aumentar la producción intestinal de metabolitos con actividad antiinflamatoria ya comentada, como los AGCC, en especial el butirato por ser tanto fuente de energía principal para los colonocitos como regulador de la permeabilidad intestinal al favorecer la expresión de proteínas de unión estrecha (TJP, *tight junction proteins*) (21, 22); los derivados del triptófano, capaces de activar el receptor AhR, inhibiendo la activación de la vía NF- κ B y la expresión de TNF- α (22); y los ácidos biliares secundarios, ligandos de alta afinidad para TGR5 y FXR, con efecto general antiinflamatorio en macrófagos (22). Además, en este contexto se ha sugerido también que los probióticos podrían suprimir la inflamación intestinal mediante la regulación negativa de la expresión de los TLR (*Toll-like receptors*), implicados en la secreción de citosinas proinflamatorias tras reconocer patrones moleculares patógenos (Figura 6) (18).

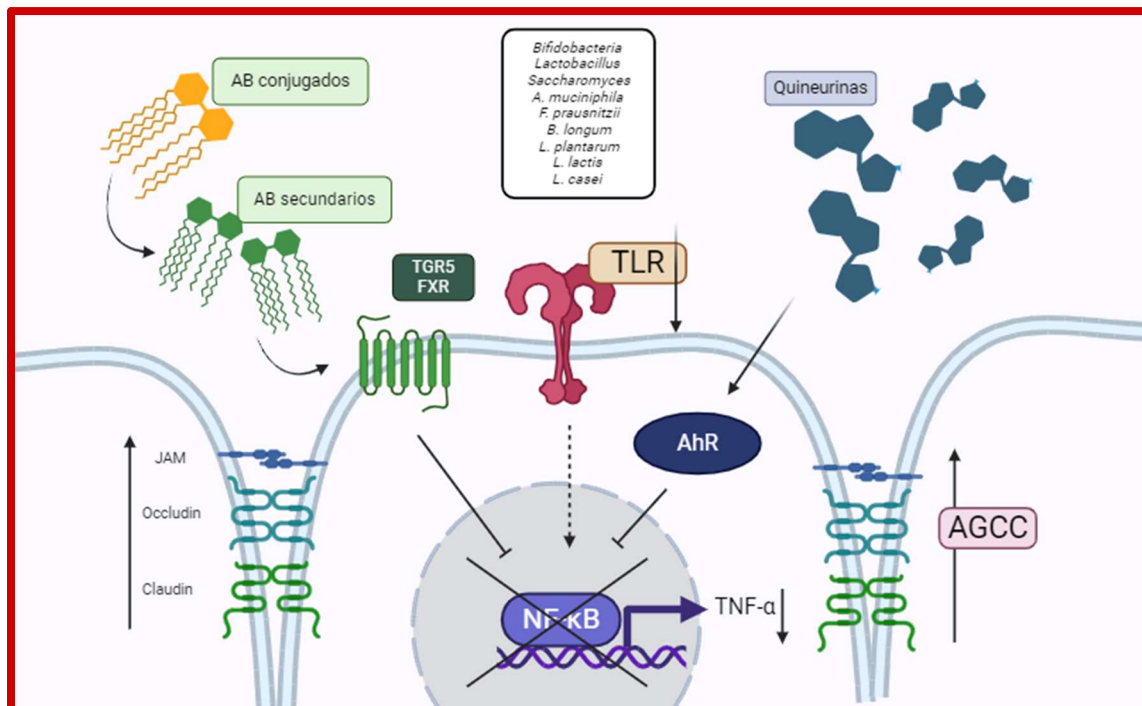


Figura 6. Mecanismos moleculares antiinflamatorios y reparadores de la mucosa en el tratamiento con probióticos y prebióticos. Elaboración propia.

El empleo de grupos de microorganismos específicos (en los probióticos) o la promoción de su desarrollo (mediante los productos prebióticos) favorece la reparación de la barrera intestinal mediante la expresión de proteínas de unión estrecha (TJP) por el aumento de síntesis de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), disminuyendo la traslocación bacteriana.

Estas poblaciones facilitan también el metabolismo de los ácidos biliares (AB) conjugados a AB secundarios, capaces de activar los receptores TGR5 y FXR. Las quineurinas derivadas del metabolismo del triptófano activan el receptor de aril hidrocarburo (AhR). Todo ello inhibe la vía NF-κB y la expresión de TNF-α. La disminución en la expresión de receptores tipo *Toll* (TLR) tiene efectos similares.

En una revisión sistemática recientemente publicada, se examinaron siete estudios sobre el uso de probióticos en pacientes con EC, controlados con placebo, en el mantenimiento o bien en la enfermedad activa. En la mayoría no se obtuvieron los resultados beneficiosos deseados y solo en uno de ellos se consiguieron resultados estadísticamente significativos cuando se combinó el probiótico con el tratamiento estándar con mesalazina (6,25% de recaídas en el grupo combinado vs 37,5% en el grupo

control) (Tabla 1). No obstante, se reconoce que existen limitaciones importantes que pueden afectar al resultado de los ensayos como el número reducido de participantes o el tiempo de seguimiento, así como las diferencias en cuanto a los protocolos y probióticos empleados, lo que dificulta la generalización de los resultados (24).

Reference; Country; Year;	Probiotic used	Form and quantity of administration	Study design; duration	No. of patients; disease activity	Effects of probiotics
Guslandi et al.[34]; Italy; 2000	<i>S. boulardii</i>	via 2 x capsules/d (à 500 mg)	pro + mesalazine vs mesalazine; 6 months	32; inactive	↓ clinical relapse (CDAI > 150) (p = 0.04): pro + mesalazine 6.25 % mesalazine 37.5 %
Prantera et al.[32]; Italy; 2002	<i>L. rhamnosus GG</i>	via 2 x packets/d (à 6 x 10 ⁹ cfu) dissolved in water	pro vs pl; 12 months	45; inactive, after curative resection	↔ clinical recurrence (CDAI > 150): pro 16.6 % pl 10.5 % ↔ endoscopic recurrence (p = 0.297)
Schultz et al.[33]; Germany, USA; 2004	<i>L. rhamnosus GG</i>	via capsules (2 x 10 ⁹ cfu/d)	pro vs pl; 6 months	11; inactive	↔ clinical relapse (CDAI + 100): pro (2/4) pl (3/5) ↔ CDAI
Marteau et al.[29]; France; 2006	<i>L. johnsonii LA1</i>	via 2 x packets/d (à 2 x 10 ⁹ cfu) dissolved in water	pro vs pl; 6 months	98; inactive, after curative resection	↔ clinical recurrence (CDAI > 200): pro (4/48) pl (3/50) ↔ endoscopic recurrence (ITT; p = 0.15): pro 49 % pl 64 %
Van Gossum et al.[31]; Belgium; 2007	<i>L. johnsonii LA1</i>	via packets (à 10 ¹⁰ cfu/d) + 120 ml/d enteral formula	pro vs pl; 3 months	70; inactive, after curative resection	↔ mean endoscopic score (ITT; p = 0.48) ↔ CDAI ↔ severe recurrence (ITT; p = 0.33): pro 21 % pl 15 %
Bourreille et al.[28]; France; 2013	<i>S. boulardii</i>	via capsules 1g/ d	pro vs pl; 12 months	165; inactive	↔ clinical relapse (p = 0.5): pro 47.5 % pl 53.2 % ↔ median time to relapse (p = 0.78)
Bjarnason et al.*[30]; UK; 2019	Symprove - <i>L. rhamnosus</i> - <i>L. plantarum</i> - <i>L. acidophilus</i> - <i>E. faecium</i>	via bottles pro in water-based suspension of barley extract 1 ml/kg/d (10 ⁹ cfu/50 ml dose)	pro vs pl; 1 month	61; quiescent or mild	↔ clinical disease activity (p = 0.66)

Tabla 1. Características y resultados de los estudios que emplearon probióticos en pacientes con EC, de la revisión sistemática de Lorentz A et al (24).

Por otro lado, el estudio y comprensión más detallado de las vías de señalización beneficiosas de estos productos podría ayudar al desarrollo mediante ingeniería

probiótica de cepas bacterianas concretas como vehículos con la capacidad de producción in situ de una o varias moléculas terapéuticas que demuestren un mayor efecto en el control y mantenimiento de la enfermedad (18).

CONCLUSIONES

Pese a que la patogénesis de la EC permanece en parte desconocida, la evidencia acumulada hace que cada vez sea más evidente el papel de una microbiota intestinal alterada como factor clave en el establecimiento de un estado proinflamatorio aberrante que culmina con el desarrollo de la enfermedad. Por tanto, el restablecimiento de su equilibrio debería ser un objetivo primordial en su manejo. En este sentido, el TMF y el empleo de productos probióticos y prebióticos se mostraban como un recurso prometedor en el control y mantenimiento de la enfermedad. No obstante, las opciones aquí revisadas no han conseguido hasta el momento cumplir los resultados esperados, aunque sí que existen indicios de su potencial papel beneficioso.

Estos resultados, a priori desalentadores, pueden deberse en parte a la gran heterogeneidad de protocolos en los ensayos clínicos hasta ahora publicados, el pequeño tamaño muestral en general de las cohortes y el escaso tiempo de seguimiento, entre otros, suponiendo limitaciones importantes a la hora de interpretar los resultados, de ahí la necesidad de nuevos ensayos bien estructurados y con objetivos comunes, que nos permitan extraer conclusiones firmes.

Por otro lado, un mayor esfuerzo por ampliar el conocimiento en el campo de las complejas relaciones entre el sistema inmune y la microbiota, y las de la propia comunidad microbiana intestinal en sí, podría ayudar a identificar nuevas formas de modulación de la disbiosis y el estado proinflamatorio.

Esta revisión supone, por tanto, un punto de partida a partir del cual pueden surgir nuevas actualizaciones que traten de responder las incógnitas que permanecen abiertas en un campo que hoy en día continúa siendo complejo y no del todo comprendido por la comunidad científica.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*. 2012 Sep 13;489(7415):220-30. doi: 10.1038/nature11550.
2. Caparrós E, Wiest R, Scharl M, Rogler G, Gutiérrez Casbas A, Yilmaz B, Wawrzyniak M, Francés R. Dysbiotic microbiota interactions in Crohn's disease. *Gut Microbes*. 2021 Jan-Dec;13(1):1949096. doi: 10.1080/19490976.2021.1949096
3. Snapper S, Abraham C. Immune and microbial mechanisms in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. En: UpToDate, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer. (Consultado en 22 de diciembre de 2023).
4. Kowalska-Duplaga K, Gosiewski T, Kapusta P, Sroka-Oleksiak A, Wędrychowicz A, Pieczarkowski S, Ludwig-Słomczyńska AH, Wołkow PP, Fyderek K. Differences in the intestinal microbiome of healthy children and patients with newly diagnosed Crohn's disease. *Sci Rep*. 2019 Dec 11;9(1):18880. doi: 10.1038/s41598-019-55290-9.
5. Glassner KL, Abraham BP, Quigley EMM. The microbiome and inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2020 Jan;145(1):16-27. doi: 10.1016/j.jaci.2019.11.003.

6. Turpin W, Lee SH, Raygoza Garay JA, et al. Increased Intestinal Permeability Is Associated With Later Development of Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2020 Aug 10. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.08.005.
7. Regueiro M, Al Hashash J. Overview of the medical management of mild (low risk) Crohn disease in adults. En: *UpToDate*, Connor RF (Ed), Wolters Kluwer. (Consultado en 22 de diciembre de 2023).
8. Cammarota G, Ianiro G, Tilg H, Rajilić-Stojanović M, Kump P, Satokari R, Sokol H, Arkkila P, Pintus C, Hart A, Segal J, Aloï M, Masucci L, Molinaro A, Scaldaferri F, Gasbarrini G, Lopez-Sanroman A, Link A, de Groot P, de Vos WM, Högenauer C, Malfertheiner P, Mattila E, Milosavljević T, Nieuwdorp M, Sanguinetti M, Simren M, Gasbarrini A; European FMT Working Group. European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2017 Apr;66(4):569-580. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313017. Epub 2017 Jan 13.
9. Collins, Miranda MEd, MPAS, PA-C; DeWitt, Morgan MSPAS, PA-C. Fecal microbiota transplantation in the treatment of Crohn disease. *Journal of the American Academy of Physician Assistants* 33(9):p 34-37, September 2020. | DOI: 10.1097/01.JAA.0000694964.31958.b9
10. Zeng W, Shen J, Bo T, Peng L, Xu H, Nasser MI, Zhuang Q, Zhao M. Cutting Edge: Probiotics and Fecal Microbiota Transplantation in Immunomodulation. *J Immunol Res*. 2019 Apr 16;2019:1603758. doi: 10.1155/2019/1603758.
11. Hvas CL, Bendix M, Dige A, Dahlerup JF, Agnholt J. Current, experimental, and future treatments in inflammatory bowel disease: a clinical review. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2018 Dec;40(6):446-460. doi: 10.1080/08923973.2018.1469144. Epub 2018 May 10
12. M N Quraishi, W Shaheen, Y H Oo, T H Iqbal, Immunological mechanisms underpinning faecal microbiota transplantation for the treatment of inflammatory bowel disease, *Clinical and Experimental Immunology*, Volume 199, Issue 1, January 2020, Pages 24–38, <https://doi.org/10.1111/cei.13397>
13. Kong L, Lloyd-Price J, Vatanen T, Seksik P, Beaugerie L, Simon T, Vlamakis H, Sokol H, Xavier RJ. Linking Strain Engraftment in Fecal Microbiota Transplantation With Maintenance of Remission in Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2020 Dec;159(6):2193-2202.e5. doi: 10.1053/j.gastro.2020.08.045. Epub 2020 Aug 26
14. Britton GJ, Contijoch EJ, Spindler MP, Aggarwala V, Dogan B, Bongers G, San Mateo L, Baltus A, Das A, Gevers D, Borody TJ, Kaakoush NO, Kamm MA, Mitchell H, Paramsothy S, Clemente JC, Colombel JF, Simpson KW, Dubinsky MC, Grinspan A, Faith JJ. Defined microbiota transplant restores Th17/RORγt⁺ regulatory T cell balance in mice colonized with inflammatory bowel disease microbiotas. *Proc*

Natl Acad Sci U S A. 2020 Sep 1;117(35):21536-21545. doi: 10.1073/pnas.1922189117. Epub 2020 Aug 18.

15. Shen Z, Zhu C, Quan Y, Yuan W, Wu S, Yang Z, Luo W, Tan B, Wang X. Update on intestinal microbiota in Crohn's disease 2017: Mechanisms, clinical application, adverse reactions, and outlook. *J Gastroenterol Hepatol*. 2017 Nov;32(11):1804-1812. doi: 10.1111/jgh.13861
16. Zhou S, Cui Y, Zhang Y, Zhao T, Cong J. Fecal microbiota transplantation for induction of remission in Crohn's disease: a systematic review and meta-analysis. *Int J Colorectal Dis*. 2023 Mar 8;38(1):62. doi: 10.1007/s00384-023-04354-4.
17. Sokol H, Landman C, Seksik P, Berard L, Montil M, Nion-Larmurier I, Bourrier A, Le Gall G, Lalande V, De Rougemont A, Kirchgessner J, Daguanel A, Cachanado M, Rousseau A, Drouet É, Rosenzweig M, Hagege H, Dray X, Klatzman D, Marteau P; Saint-Antoine IBD Network; Beaugerie L, Simon T. Fecal microbiota transplantation to maintain remission in Crohn's disease: a pilot randomized controlled study. *Microbiome*. 2020 Feb 3;8(1):12. doi: 10.1186/s40168-020-0792-5
18. Mishra J, Stubbs M, Kuang L, Vara N, Kumar P, Kumar N. Inflammatory Bowel Disease Therapeutics: A Focus on Probiotic Engineering. *Mediators Inflamm*. 2022 Jan 17;2022:9621668. doi: 10.1155/2022/9621668.
19. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sanders ME. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014 Aug;11(8):506-14. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66. Epub 2014 Jun 10.
20. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, Reid G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017 Aug;14(8):491-502. doi: 10.1038/nrgastro.2017.75. Epub 2017 Jun 14.

21. Hu Y, Chen Z, Xu C, Kan S, Chen D. Disturbances of the Gut Microbiota and Microbiota-Derived Metabolites in Inflammatory Bowel Disease. *Nutrients*. 2022 Dec 2;14(23):5140. doi: 10.3390/nu14235140
22. So D, Quigley EMM, Whelan K. Probiotics in irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease: review of mechanisms and effectiveness. *Curr Opin Gastroenterol*. 2023 Mar 1;39(2):103-109. doi: 10.1097/MOG.0000000000000902. Epub 2023 Jan 9
23. Gowen R, Gamal A, Di Martino L, McCormick TS, Ghannoum MA. Modulating the Microbiome for Crohn's Disease Treatment. *Gastroenterology*. 2023 Apr;164(5):828-840. doi: 10.1053/j.gastro.2023.01.017. Epub 2023 Jan 24.
24. Lorentz A, Müller L. Probiotics in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease in Adulthood: A Systematic Review. *J Gastrointest Liver Dis*. 2022 Mar 19;31(1):74-84. doi: 10.15403/jgld-3936.

