



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**USO DE PROBIÓTICOS COMO  
ABORDAJE TERAPÉUTICO EN LA  
ENFERMEDAD INFLAMATORIA  
INTESTINAL**

Autor: Ignacio Sebastián Muñoz

Fecha: Julio 2020

Tutor: Elisa Fernández Millán

# ÍNDICE

<b>1. RESUMEN</b> .....	2
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>2. INTRODUCCIÓN</b> .....	2
<b>2.1 ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL</b> .....	2
<b>2.2 MICROBIOTA INTESTINAL</b> .....	4
<b>2.3 PROBIÓTICOS: GENERALIDADES</b> .....	5
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	6
<b>4. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	6
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	6
<b>5.1 GENÉTICA Y ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL</b> .....	6
<b>5.2 EL PAPEL DE LOS FACTORES AMBIENTALES EN LA PATOGÉNESIS</b> .....	7
<b>5.3 INTERACCIÓN MICROBIOTA-SISTEMA INMUNE</b> .....	7
<b>5.4 MICROBIOTA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL</b> .....	9
<b>5.5 ESTUDIO EXPERIMENTAL DEL PAPEL DE LOS PROBIÓTICOS</b> .....	11
<b>5.5.1 COLITIS ULCEROSA</b> .....	11
<b>5.5.2 ENFERMEDAD DE CROHN</b> .....	12
<b>5.6 TRANSPLANTE DE MICROBIOTA FECAL (TMF)</b> .....	13
<b>5.7 MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS</b> .....	14
<b>5.8 LIMITACIONES EN LOS RESULTADOS OBTENIDOS</b> .....	16
<b>6. CONCLUSIÓN</b> .....	16
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	16

## **1. RESUMEN**

La Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) es un conjunto de enfermedades crónicas, inflamatorias, que afectan al sistema digestivo en cualquier parte desde la boca al ano, y de etiología aún desconocida. Entre las enfermedades se incluyen la Enfermedad de Crohn y la Colitis Ulcerosa. La terapia estándar se centra en la remisión y el mantenimiento de esta, con importantes efectos secundarios. Por ello, en los últimos años, una vez demostrado el papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la inflamación, se ha puesto en relieve el uso de los probióticos como alternativa terapéutica. De acuerdo a la definición de la OMS, los probióticos son microorganismos vivos, que en cantidades adecuadas, confieren un efecto beneficioso para la salud. En esta revisión nos centramos en el análisis de los estudios realizados sobre los probióticos en la EII y sus limitaciones, sus mecanismos de acción y las perspectivas de futuro en este campo.

## **ABSTRACT**

Inflammatory Bowel Disease (IBD) is a group of chronic, inflammatory diseases that affect the digestive system anywhere from the mouth to the anus, and of a still unknown etiology. Diseases include Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. Standard therapy focuses on remission and maintenance, with significant side effects. Therefore, in recent years, even the role of the gut microbiota in the development of inflammation has been demonstrated, the use of probiotics as a therapeutic alternative has been highlighted. According to the WHO definition, probiotics are living microorganisms that, in adequate amounts, confer a beneficial effect on health. In this review we focus on the analysis of studies conducted on probiotics in IBD and its limitations, its mechanisms of action and future prospects in this field.

## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1 ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL**

La Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) es un grupo heterogéneo de trastornos caracterizados por una inflamación crónica remitente del intestino delgado o grueso, una composición alterada de la población microbiana a nivel intestinal (flora intestinal) y anomalías bioquímicas sistémicas. Los dos principales tipos de enfermedad inflamatoria son:

- **Colitis ulcerosa:** se caracteriza por una inflamación que afecta en el inicio a la zona del recto, se puede extender de forma continua y difusa hacia el colon. Cursa con infiltrado linfocitario que se extiende a través de la mucosa y con una pérdida histológica total con desarrollo de microabcesos en el fondo de las criptas. (1)  
Síntomas: aparecen en los brotes agudos de la enfermedad y se alternan con fases de inactividad. Los más comunes son diarreas (con deposiciones con sangre, moco y pus), dolor abdominal, sensación continua de hacer una deposición (tenesmo), urgencia a la hora de hacer deposiciones y, ocasionalmente, náuseas y vómitos. (2)
- **Enfermedad de Crohn:** se caracteriza por el desarrollo de una inflamación crónica y transmural, con capacidad para comprometer todos los segmentos del tracto, afectando preferentemente el íleon terminal, colon y región perianal. (1)

**Síntomas:** durante los brotes agudos los síntomas más frecuentes son diarrea (a veces con sangrado), dolor abdominal, pérdida de peso, cansancio y fiebre. La duración de los brotes suele ser de entre 2-4 semanas. En ocasiones, la zona anal se puede ver afectada con la aparición de abscesos y fístulas (aparecen cuando se expulsa pus alrededor del ano).

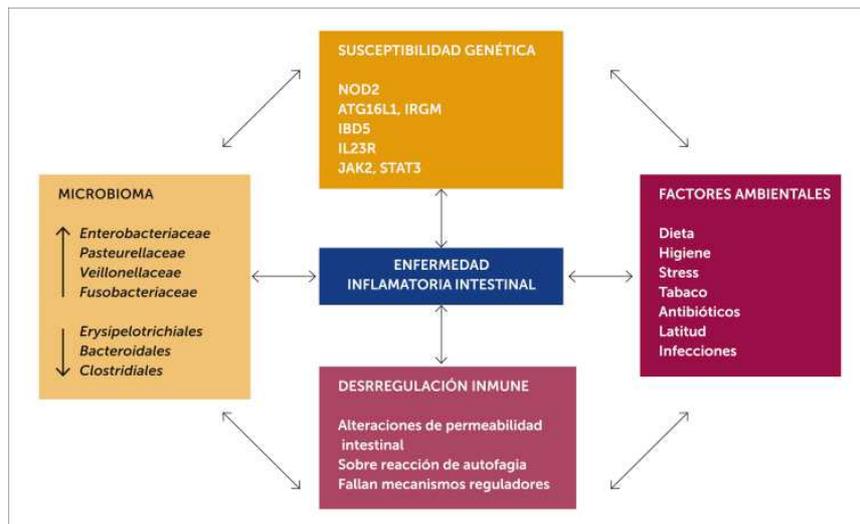
A continuación se presentan las manifestaciones más frecuentes, clasificados por patología, asociados a ambas enfermedades.

Síntoma/Enfermedad	Colitis Ulcerosa	Enfermedad de Crohn
Diarrea	Síntoma más frecuente y común.	
Fiebre	Comienza con el proceso inflamatorio intestinal. Si es alta (>38°C) puede dar indicios de una posible infección.	
Dolor abdominal	Poco frecuente	Frecuente. Presente en alrededor del 80% de los pacientes.
Sangre en heces	Muy frecuente	Poco frecuente. Se manifiesta cuando afecta al colon o intestino grueso.
Anemia	Suele ser permanente y se intensifica durante los brotes. Entre las posibles causas destacan la pérdida de sangre en las heces, la falta de absorción de los nutrientes de los alimentos y la desnutrición por falta de apetito.	
Pérdida de peso	Se intensifica en los brotes graves. Estrechamente ligada a la pérdida del apetito.	Especialmente importante cuando la EC afecta al intestino delgado.
Tenesmo (sensación de evacuación incompleta)	Frecuente	Se manifiesta cuando afecta al colon o intestino grueso.
Fatiga	Frecuente	
Lesiones anales	Poco frecuentes	Fístulas, úlceras. Presente en el 10% de los pacientes.
Manifestaciones extraintestinales	Presentes en un 10% de los pacientes. Afecta principalmente a las articulaciones, piel, ojos e hígado.	Presentes entre un 20%-40% de los pacientes. Afecta articulaciones, piel y ojos.

**Tabla 1.** Síntomas más frecuentes en la Colitis Ulcerosa y en la Enfermedad de Crohn (<https://www.kernpharma.com/es/blog/enfermedades-inflamatorias-intestinales>).

La EII se ha convertido en todo un desafío global para la salud pública, con un incremento en la frecuencia de la enfermedad en todo el mundo. La tasa de incidencia más alta se observa en las regiones del llamado primer mundo (Europa, América del Norte, Oceanía), mientras que la EII se está volviendo más común en aquellas zonas en desarrollo donde el estilo de vida se está occidentalizando (por ejemplo en zonas del este de Asia). Se ha demostrado que los cambios en el estilo de vida incluida la mejora del saneamiento, la reducción de la exposición microbiana en las primeras etapas de la vida, la dieta occidentalizada y un aumento en el uso de antibióticos influyen en la microbiota intestinal. (3)

La comprensión de la patogénesis de la EII está todavía fuera de alcance y, por lo tanto, las terapias formuladas para su tratamiento están lejos de ser óptimas ya que ninguna permite alcanzar una curación completa a largo plazo (4). Pese a que aún se desconoce la etiología exacta de la EII, se sabe que la predisposición al desarrollo de la enfermedad es el resultado de la interacción de factores genéticos, ambientales, una microbiota intestinal cualitativa y cuantitativamente anormal y una respuesta inmunitaria ampliamente desregulada.



**Figura 1.** Patogénesis de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal

(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S071686401930077X>)

## 2.2 MICROBIOTA INTESTINAL

El sistema digestivo alberga microorganismos, incluidas bacterias, virus, hongos y protozoos, que constituyen la microbiota intestinal. Uno de los datos más interesantes lo encontramos en que el conjunto del material genético de la microbiota, llamado microbioma, contiene 100 veces más genes que el genoma humano (5). El proceso de colonización empieza durante la transmisión de la madre al feto. Los factores ambientales (alimentación, higiene, uso de antibióticos...) son clave en la homeostasis entre la microbiota y el huésped con gran influencia en el desarrollo inmunitario. La microbiota alcanza la composición cualitativa y cuantitativa descrita en la de los adultos entre los 2 y los 5 años. (6).

La microbiota intestinal descrita en la mayoría de individuos sanos se compone de más de 1000 especies de bacterias, se ha descrito una gran diferencia interindividual pero encontramos ciertos patrones comunes en todos los individuos (7). La microbiota intestinal está dominada por bacterias estrictamente anaerobias, en una cantidad muy superior a las anaerobias facultativas o las aerobias que ven limitada su colonización del medio intestinal por las condiciones anaeróbicas predominantes. Más del 99% de las bacterias intestinales pertenecen a cuatro filos: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y *Proteobacteria*. De estos cuatro, *Bacteroidetes* y *Firmicutes* son dominantes en la microbiota de un individuo sano mientras que *Actinobacteria* y *Proteobacteria* colonizan de forma escasa el colon. También se ha descrito la presencia en una muy baja proporción de bacterias anaerobias facultativas y aerobias (por ejemplo, *Enterococcus* y *Enterobacter*) clasificados muchos de ellos como oportunistas, ya que bajo condiciones de homeostasis y tolerancia no son patógenos pero bajo ciertas condiciones, como en la EII, si son patógenos. (8)

La microbiota interviene en la regulación de numerosas funciones fisiológicas, por ejemplo, favorece un completo desarrollo del sistema inmune desde el inicio del proceso de colonización, protección frente a los patógenos (por mecanismos como la competencia por el mismo nicho) y el aporte de metabolitos con función nutritiva y endocrina. Es por todo esto, que en muchos estudios la microbiota alcanza la consideración de órgano. (9)

La microbiota intestinal se encarga de aportar energía y nutrientes al huésped. Un ejemplo es el caso de *Bifidobacterium*, una especie bacteriana comensal, capaz de sintetizar y suplir al huésped de vitaminas B y K (49). Pero el mayor efecto estudiado en la relación nutritiva microbiota-huésped es la síntesis de ácidos grasos de cadena corta (SCFAs) por parte de la microbiota intestinal. Proceden, en su mayoría, de carbohidratos no digeridos que llegan intactos a nivel del colón y allí son fermentados. *Firmicutes* y *Bacteroidetes* producen SCFA de carbohidratos no digeribles a través de la colaboración con especies especializadas en fermentación de oligosacáridos (por ejemplo, Bifidobacteria). Los más comunes son el ácido acético, el ácido propiónico y el ácido butírico, que constituyen el 90%–95% de los SCFA presentes en el colon humano. (10)

Entre las funciones de los SCFA, encontramos que son la fuente energética del 10% de las calorías diarias del huésped, regulan el metabolismo de la glucosa, del colesterol... Los SCFA juegan un papel muy importante en el mantenimiento de la homeostasis intestinal e inmune en el cuerpo humano: regulan la función de barrera intestinal (regulan la síntesis de la mucina MUC2), controlan la diferenciación de los linfocitos Treg y la producción de IL-10, además, muestran actividad antiinflamatoria, inhibiendo la actividad de los mediadores inflamatorios en el epitelio intestinal. (9)

Otro de los campos de investigación en la actualidad se basa en dilucidar si la alteración cuantitativa y cualitativa de la microbiota intestinal, denominada bajo el término disbiosis, es la causa que produce la EII o se trata de una consecuencia de ella. No obstante, aún no está claro el papel de la microbiota en la patogénesis de la EII. Por ello, la investigación con tratamientos que manipulan la microbiota intestinal, incluidos el uso de probióticos y prebióticos, está muy activa aunque con evidencias variables en cuanto a su eficacia.

### 2.3 PROBIÓTICOS: GENERALIDADES

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a los probióticos como “*microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un efecto beneficioso para la salud del sujeto que lo recibe*”. Aunque clásicamente bajo la denominación de probióticos incluíamos solamente a lactobacillus y bifidobacterias, hoy en día incluye especies bacterianas no patógenas, como *E.Coli* y otros microorganismos no bacterianos, como *Saccharomyces boulardii* (11). En el momento de elegir un probiótico debemos asegurarnos que cumple los requisitos descritos en la siguiente tabla.

- |  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Procedencia humana (excepción <i>S.cerevisiae</i>)</li><li>• Identificación exacta de la cepa</li><li>• Validación de sus efectos beneficiosos para la salud</li><li>• Ausencia de toxicidad, patogenicidad, alergenicidad y carcinogenicidad</li><li>• Viabilidad y estabilidad hasta su consumo, en una cantidad suficiente y manteniendo sus propiedades</li><li>• Capacidad para sobrevivir y multiplicarse cuando llega a su lugar de acción</li><li>• Resistente a la acción de sales biliares</li><li>• Capacidad de adhesión al epitelio intestinal y prevención de la colonización por patógenos, efecto barrera.</li></ul> |
|--|

**Tabla 2.** Requisitos que debe cumplir un probiótico. (12)

Es primordial que la cepa elegida sea específica para la acción concreta de salud (cualquier probiótico no vale) y que existan estudios avalando y demostrando su eficacia y su inocuidad. Las evidencias científicas observadas en un tipo de población no son extrapolables a otra que varíe en el estado fisiológico (11, 44).

### **3. OBJETIVOS**

El objetivo de este trabajo consiste en definir el papel de los probióticos como estrategia terapéutica frente a las alternativas convencionales en el abordaje de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal. Se describen los distintos factores de riesgo de forma individual, cómo interactúan entre ellos y su contribución en el inicio de la patología. Por otro lado, se realiza una revisión de la composición de la microbiota intestinal y la relación fisiológica que establece con el huésped como ejemplo de coevolución y tolerancia inmunológica en el estado previo a la patología. A partir del estudio de la microbiota podremos caracterizar la funcionalidad de los probióticos.

### **4. MATERIAL Y MÉTODOS**

Para realizar este trabajo se han utilizado distintas fuentes de información con el fin de encontrar la bibliografía adecuada y actualizada. Se realizó una revisión bibliográfica consultando las bases de datos PubMed, Google académico, Scielo, Centro Médico - Quirúrgico de Enfermedades Digestivas, y Elsevier. También en libros como el de “Inmunología celular y molecular” de Abbas. Esta búsqueda bibliográfica se ha realizado empleando términos clave: “Inflammatory bowel disease”, “probiotics”, “microbiota”, “dysbiosis”, “gut”, “immune system”, “pathogenesis”.

## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **5.1 GENÉTICA Y ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL**

La predisposición genética es uno de los factores que contribuyen a la hipótesis actual sobre la etiología de la EII, se cree que el cambio de la microbiota intestinal en la EII puede ser consecuencia de la información genética en el huésped. Los estudios GWAS (Estudios de asociación de genoma completo) han permitido identificar más de 160 loci asociados con la capacidad de conferir protección frente a la aparición de la EII o los polimorfismos relacionados con un mayor riesgo de desarrollo de EII (13). Por lo tanto, se puede decir que la EII es una enfermedad poligénica fruto de un manejo defectuoso de la microbiota intestinal (25).

Los primeros factores de riesgo genético descrito, a partir de estudios sobre la Enfermedad de Crohn, fueron las variantes de la proteína 2 del dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NOD2) (14). NOD2 es un receptor de reconocimiento de patrones expresado principalmente en células del sistema inmune innato, así como en células epiteliales intestinales, que se une a un componente presente en la pared bacteriana de Gram positivas y Gram negativas, el muramil dipéptido (15).

Otro gen de estudio es ATG16L1, involucrado en los procesos de autofagia a nivel intracelular, cuya deficiencia y polimorfismos ha sido descrita en grupos de pacientes con la EC. La deficiencia de ATG16L1 se ha relacionado con una disminución en la actividad de las células de Paneth. En los estudios realizados en pacientes con EC, se observó además una menor expresión de las proteínas alfa-defensinas 5 y 6 (*HD5* y *HD6*) en las células de Paneth, y, una reducción de la actividad antimicrobiana. (16)

Un modelo de estudio realizado en ratones RAG2 -/- (ratones deficientes en el gen activador de recombinación (RAG)) colonizado con *Helicobacter hepaticus* mostró el desarrollo de colitis crónica que reproducía las características de inflamación de la EII humana, mientras que esto no ocurrió en los ratones inmunocompetentes sin ninguna alteración en RAG infectados con *Helicobacter hepaticus*. (25)

La microbiota intestinal también incluye comunidades fúngicas que, al igual que las bacterias, se ven alteradas en pacientes con EII. Estas comunidades fúngicas interactúan con receptores como CLEC7A (también llamado DECTIN1) perteneciente a los receptores de lectinas tipo C. Un polimorfismo de un solo nucleótido en CLEC7A se ha asociado con EII. (16).

## **5.2 EL PAPEL DE LOS FACTORES AMBIENTALES EN LA PATOGÉNESIS**

Estos factores ambientales causales de la EII están asociados al cambio en el estilo de vida “occidentalizado” (15,18), así como en las condiciones ambientales observadas durante los últimos 100 años en el continente europeo, y en las últimas décadas también en el continente asiático. Otro término utilizado en la investigación de la contribución de los factores ambientales es el de la “hipótesis de higiene” (18), la mejora en las condiciones higiénicas y la reducción de la estimulación natural del sistema inmune por la interacción con el medio, son factores que predisponen al desarrollo de la EII. El estudio de estos factores ambientales y su influencia en la EII es importante porque, a diferencia de los factores de riesgo genéticos, pueden modificarse o al menos modularse disminuyendo su acción patogénica (15).

Las dietas occidentales (3, 13) actuales se caracterizan por incluir altas cantidades de grasas y azúcares refinados y una baja proporción de alimentos de origen vegetal con un alto porcentaje de fibra. Estas dietas se han asociado con el desarrollo de la EII. El moco que recubre el epitelio colónico en ratones alimentados con este tipo de dieta occidental mostró un grosor disminuido y una mayor permeabilidad después de solo una semana de dieta, es decir, un fenotipo asociado con la EII.

El factor ambiental que más ha sido estudiado por su influencia en el curso de la EII es el consumo de tabaco (15,17). La evidencia de que fumar aumenta el riesgo de desarrollar la EII ha sido ampliamente demostrada y, además, fumar altera la microbiota intestinal contribuyendo a la enfermedad. En el caso de la EC, nos encontramos con una asociación más fuerte entre el consumo de tabaco y un mayor riesgo a desarrollar EC o que esta tenga peor pronóstico. (15)

Los anticonceptivos orales y los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINES) pueden causar brotes agudos en personas en estado de remisión estable (17). Existen varios estudios epidemiológicos que muestran que los antibióticos pueden aumentar el riesgo de EII. Estudios previos han sugerido que la exposición a antibióticos modifica la composición de la microbiota intestinal, y la exposición repetida a antibióticos produce una disbiosis persistente. (18)

## **5.3 INTERACCIÓN MICROBIOTA-SISTEMA INMUNE**

La inmunidad intestinal ha evolucionado de tal forma que es capaz de suprimir la respuesta inmune frente a la microbiota comensal pero sí de responder frente a los patógenos, este fenómeno se conoce como tolerancia inmunológica y su correcto mantenimiento es fundamental. (20)

- Inmunidad innata

La protección innata está mediada en gran parte por la barrera física y química proporcionada por las células epiteliales, que presentan estrechas uniones intercelulares. Por encima nos encontramos con una capa de mucosa, que representa el primer escudo limitando el contacto entre la microbiota y el tejido intestinal del huésped, compuesta de glucoproteínas de mucina, defensinas, REGIII  $\gamma$ ... Su función es actuar como barrera para evitar que los microorganismos de la luz intestinal atraviesen el epitelio intestinal, de modo que, defectos en estos componentes se asocian a invasiones bacterianas y a la EII. (19)

Los receptores *Toll like receptor* (TLR) y *Nod like receptor* (NOD) que desencadenan el inicio de la respuesta inmune innata, son expresados por las células epiteliales y promueven respuestas inmunes frente a los patógenos, pero también limitan la respuesta inflamatoria frente a los comensales. Estos receptores reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) expresados tanto en patógenos como en comensales, sin embargo, como este reconocimiento desencadena respuestas inflamatorias que pueden llevar a una inflamación patológica, el sistema inmune ha desarrollado distintos mecanismos de control que limitan las respuestas inducidas por estos receptores frente a la microbiota comensal. (15, 19, 20).

Las células dendríticas y los macrófagos sirven para mantener la homeostasis e inhibir la respuesta inflamatoria, la expresión de genes inflamatorios queda inhibida por los productos microbianos. Un ejemplo del fenómeno de tolerancia lo encontramos en algunos macrófagos intestinales con un fenotipo único con capacidad para actuar frente a microorganismos, pero, también de secretar citoquinas antiinflamatorias como IL-10. (21)

- Inmunidad adaptativa

La principal forma de inmunidad adaptativa frente a la microbiota de la luz intestinal, que impide que estos invadan la barrera epitelial y que neutraliza a patógenos invasores, es la inmunidad humoral mediada por IgA, producida en los tejidos linfáticos asociados al intestino (GALT) para su posterior secreción a la luz intestinal donde ejerce su función. La producción predominante de IgA por las células plasmáticas se debe a la inducción selectiva del cambio de isotopo a IgA en los linfocitos B, dirigida en respuesta a la activación de TLR por bacterias comensales. (20)

Las células dendríticas y macrófagos tienen la capacidad de dirigir la diferenciación de los linfocitos T vírgenes en linfocitos T efectoros (como Th 17) o en linfocitos T reguladores (Treg), mediante la presentación de antígenos de la microbiota y la producción de TGF- $\beta$ , que promueve la expresión de FoxP3 e inhibe la generación de linfocitos Th1 y Th2, y, ácido retinoico en el momento de la presentación que promueve también la expresión de FoxP3 (21). En modelos animales se ha demostrado que la microbiota juega un papel principal en la regulación del equilibrio Th17/Treg, considerado uno de los elementos clave en el desarrollo de la inflamación intestinal. (22,23)

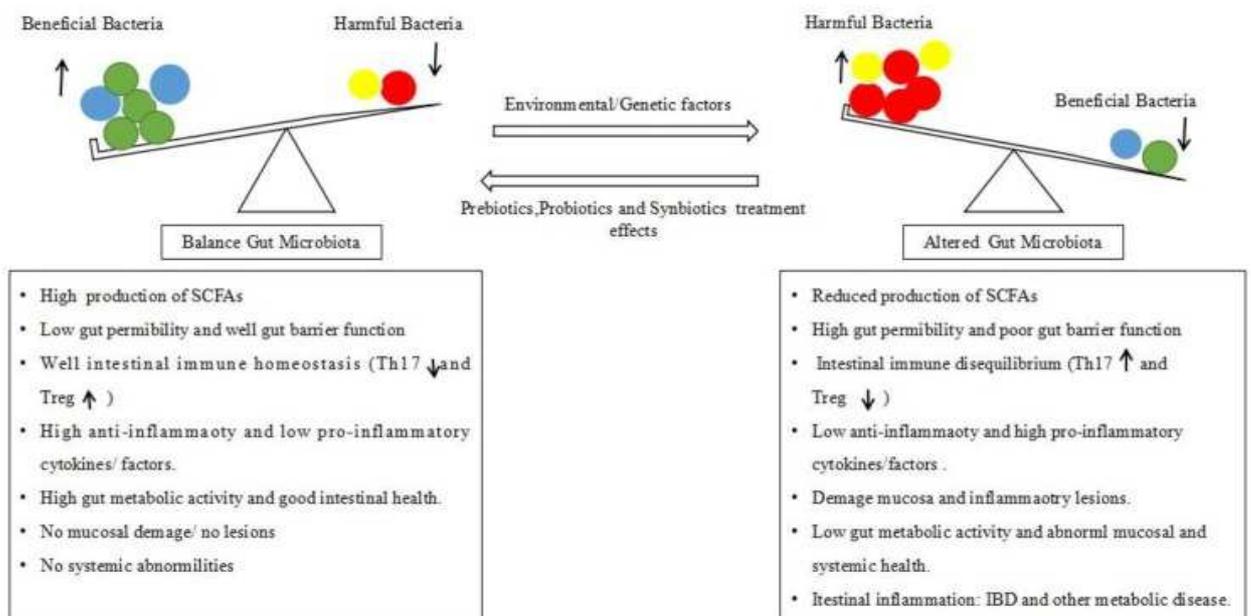
El papel de los linfocitos Th17 ha sido objeto de estudio en los últimos años. Por un lado, ejerce una función de promoción de la barrera epitelial a través de la inducción de la acción de citoquinas IL-17 e IL-22(21). Por otro lado, se ha demostrado la existencia de una respuesta activa y desmesurada de Th17 en modelos de ratones con EII con la

liberación de citoquinas proinflamatorias. La hipótesis actual es que el fenotipo de los linfocitos Th17 está condicionado por la presencia de la microbiota, por lo tanto, estos linfocitos presentan cierto grado de plasticidad en su respuesta (22). Uno de los ejemplos más estudiados es la diferenciación de Th17 a partir de la presencia de bacterias filamentosas segmentadas (SFB), a través de la interacción con las proteínas del flagelo. (23)

Los linfocitos T reguladores FoxP3+ evitan reacciones inflamatorias contra la microbiota que afectarían a la homeostasis intestinal, se conocen como Treg periféricos ya que su activación responde a antígenos del intestino (21). Se caracterizan por la producción de IL-10 que desempeña un papel en el mantenimiento de la homeostasis y su deficiencia se asocia con episodios de EII con inflamación descontrolada. Se ha demostrado que *Bacteroides fragilis* a través del Polisacárido A (PSA) promueve la inducción de Foxp3 + Tregs. (24).

#### 5.4 MICROBIOTA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Existe la evidencia de que la composición cuantitativa y cualitativa de la microbiota es diferente entre los individuos con y sin patología. Esta alteración recibe el nombre de disbiosis, es responsable de la alteración de la homeostasis entre el huésped y la microbiota, con consecuencias como la disminución de la producción de metabolitos, tales como SCFA que se relacionan con una pérdida en la función de barrera del epitelio y favorece la traslocación bacteriana hacia la lamina propia (26). La pérdida de tolerancia hacia la microbiota conduce a una activación excesiva de los receptores TLR, la secreción de citoquinas con la activación de la respuesta inmune innata y la adaptativa. Sin la regulación dada por la tolerancia se produce un reclutamiento masivo de macrófagos y neutrófilos que lideran la respuesta inmune innata. Además, la pérdida en la función reguladora de las Treg favorece una respuesta más activa de linfocitos Th1, Th2 y Th17, con la consiguiente intensificación de la respuesta inflamatoria. (28)



**Figura 2.** Comparación entre la microbiota de un individuo sano y otro con EII. (25)

Durante el estudio de la disbiosis debemos tener en cuenta limitaciones como la variabilidad de microbiota entre los individuos de acuerdo a factores como la edad o la dieta, así mismo, la microbiota de los ratones empleados en los modelos de estudio también presentan una microbiota influenciada por las condiciones de cría y por su dieta. (27)

En la disbiosis la alteración cuantitativa y cualitativa se traduce en una disminución de las bacterias comensales anaerobias que dominaban el nicho intestinal en individuos sanos, afectando especialmente a *Bacteroides*, *Firmicutes*, *Lactobacillus*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* (25) y, por otro lado, favorecidos por el ambiente inflamatorio creado se produce un aumento en bacterias que no son anaerobias estrictas, descritas como oportunistas entre las que destacan bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* como algunas cepas de *E.coli*, especialmente *E.coli* adherente invasora (ECAI) (29).

Otro punto en donde se está centrando la investigación sobre la disbiosis en la EII es en resolver el rol de causalidad que tiene la disbiosis en la EII. ¿La disbiosis es la causa de la EII o una consecuencia de esta? Pese a la existencia de numerosos estudios, no existe una postura común que cierre este debate.

Uno de los mejores modelos para aproximarnos al comportamiento in-vivo de la microbiota es la utilización de modelos murinos experimentales (31). En estos modelos se estudia la interacción entre el epitelio intestinal, el sistema inmunitario y la microbiota mediante diferentes aproximaciones genéticas y/o químicas (25). En la mayoría de estos modelos donde se induce la inflamación intestinal, con sustancias químicas como *dextran sodium sulfate* (DSS) o ácido trinitrobenceno sulfónico (TNBS), o con modificaciones genéticas como en ratones deficientes e IL-10, no se produjo inflamación en ratones germ-free pero una vez restaurada la microbiota si se produjo la inflamación (30,31). Estos modelos de estudio afirman la existencia de un rol causal de la microbiota en la EII. Una de las limitaciones encontradas en estos estudios es la incapacidad de encontrar una especie o cepa bacteriana identificada como agente etiológico infeccioso (26) de acuerdo a los Postulados de Koch sobre el papel patogénico de los microorganismos en la infección.

Por otro lado, existe la hipótesis de que la EII estaría causada por la falta de eficacia en los mecanismos que regulan la tolerancia con la microbiota, por lo tanto, la disbiosis es una consecuencia del estado inflamatorio intestinal provocado por alteraciones genéticas en la regulación de la microbiota intestinal. Esta teoría se apoya en estudios donde se observa que ratones sin mutaciones genéticas (en genes asociados al control epitelial e inmune de la microbiota, como *ATG16L1*, *NOD2* o *RAG2*) (15,25) son capaces de organizar una respuesta inmune sin inflamación frente a bacterias que en modelos de ratones con mutaciones genéticas producen colitis. La explicación propuesta en el origen de la enfermedad es que una pérdida en la capacidad de control de la microbiota en la luz intestinal favorece una traslocación de comensales y patógenos hacia capas intestinales más profundas con la consiguiente respuesta inmune (25).

La asociación entre la disbiosis y la EII ha quedado claramente demostrada, sin embargo, se necesitan futuras investigaciones para aclarar la causalidad de la disbiosis en la EII. Es más probable que la disbiosis asociada a una predisposición genética y a una reacción inadecuada del sistema inmune que genere una pérdida de tolerancia con la microbiota contribuyan a la aparición de una respuesta inflamatoria anormal. En este punto, la modulación de la microbiota que permita revertir la disbiosis y la inflamación

asociadas a la EII constituye un campo de estudio muy interesante para el uso terapéutico de los probióticos.

## 5.5 ESTUDIO EXPERIMENTAL DEL PAPEL DE LOS PROBIÓTICOS

### 5.5.1 COLITIS ULCEROSA

Los estudios realizados en estos pacientes, pese a la heterogeneidad que hay entre muchos de ellos, han puesto de manifiesto resultados positivos que podrían indicar que tienen un efecto beneficioso en la remisión de la Colitis Ulcerosa (CU) leve y moderada.

- Inducción de la remisión:

Se han realizado un gran número de ensayos para valorar la capacidad de los probióticos en la inducción de la remisión en casos activos de CU. Pese a que la tendencia en la mayoría de los estudios, teniendo en cuenta las limitaciones que más adelante se exponen, indica un beneficio en su uso, también se han publicado algunas revisiones en las que se concluye que añadir los probióticos junto a la terapia farmacológica convencional no mejora la proporción de remisión en pacientes con CU de grado moderado. Estos resultados forman parte de la revisión publicada en la base de datos Cochrane en 2007, donde se analizaron 4 estudios. (32)

La mayoría de los estudios se han realizado con suplementos de probióticos VSL#3 (que contiene cuatro cepas de lactobacilos —*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii subespecie bulgaricus* y *Lactobacillus plantarum*—, tres cepas de bifidobacterias —*Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium Breve*— y *Streptococcus salivarius subespecie thermophilus*), con *E.coli Nissle 1917*. (33, 34, 35,36).

*E.coli Nissle 1917* es una de las cepas más descritas en el tratamiento con probióticos. De acuerdo a estudios, como el de Matthes et al. en 2010 (33), la respuesta tras la administración de esta cepa no fue superior al del grupo placebo en la inducción a la remisión en pacientes con CU moderada, sin embargo, si se observó menores plazos de remisión en el grupo que incluyó esta cepa en el tratamiento.

En el estudio de los efectos terapéuticos de VSL#3 se han encontrado resultados más prometedores respecto a su uso junto la terapia farmacéutica convencional, o, mediante la comparación frente a un placebo. En un primer estudio de 2004 dirigido por Tursi (34) se comparó su eficacia en la remisión frente a dos aminosalicilatos como balsalazida y mesalazina, y en un tratamiento conjunto de VSL#3 junto a balsalazida. La conclusión de este estudio indicó que el tratamiento conjunto era mejor opción que el tratamiento que solo incluyera farmacología convencional. En un segundo estudio Tursi, 2010 (35) se comparó el tratamiento conjunto de VSL#3 y el tratamiento estándar frente a un grupo donde se incluía un tratamiento conjunto de terapia estándar y placebo. Los resultados mostraron una mejora en la remisión en la terapia que incluía VSL#3 frente al placebo como se demuestra a través del parámetro “Ulcerative Colitis Disease Activity Index” (UCDAI), un parámetro donde se cuantifica la actividad de la enfermedad, donde los resultados del grupo que incluía el probiótico fueron de una reducción de más del 50% en el valor de UCDAI respecto al placebo (63,1% vs 40,8%). Estos resultados fueron avalados en un estudio posterior de 2014 (36), donde siguiendo el mismo modelo de ensayo que en caso anterior se obtuvo una reducción de más del

50% en valor de UCDAI en el 44,6% de los pacientes que incluyeron VSL#3 frente al 25,1% de aquellos que incluyeron un placebo.

- Mantenimiento de la remisión:

Encontramos ensayos en los que se compara la administración de cepas de *E.coli Nissle 1917* frente a mesalazina, con el objetivo de comparar la capacidad de ambas en la prevención de la aparición de brotes (37). Uno de los estudios más relevantes sobre el papel de este probiótico en el mantenimiento de la remisión tiene como objetivo demostrar la existencia de una eficacia equivalente entre la mesalazina y *E.coli Nissle 1917* en la prevención de brotes (37,38). Se realizó una observación del número de brotes aparecidos en ambos grupos tras un tiempo de estudio de 12 meses, con unas tasas de aparición de brotes similares en ambos grupos (33,9% vs 36,4%).

Se diseñó un estudio con el mismo objetivo pero con una vía de administración diferente del probiótico (39), los pacientes de los grupos de *E.coli Nissle 1917* recibieron enemas de 40, 20 o 10 ml. La mayoría de los participantes recibieron medicación concomitante con mesalazina. Los resultados indicaron una mejora de la remisión especialmente en el grupo con enemas de 40 ml.

Estudios con VSL#3 realizados en población pediátrica apoyan la hipótesis de la eficacia de los probióticos en el mantenimiento de la remisión durante un año. Los resultados indican que si añadimos VSL#3 al tratamiento farmacológico estándar, el porcentaje de brotes disminuye respecto al grupo que sustituye el probiótico por un placebo (49).

Sin embargo, como consecuencia de las limitaciones en estos estudios descritas posteriormente, se pone en duda el valor de los resultados de efectividad obtenidos en los estudios del uso de probióticos en el mantenimiento de la remisión. Esto es un claro ejemplo de la necesidad de realizar más estudios que confirmen de forma inequívoca esta aplicación de los probióticos.

### **5.5.2 ENFERMEDAD DE CROHN**

A diferencia de lo que hemos observado en la CU, existe una menor cantidad de estudios referidos a la inducción de la remisión y del mantenimiento de ésta en la enfermedad de Crohn.

En la inducción de la remisión destaca la revisión realizada en 2008 en la base de datos Cochrane (40). De los 12 estudios descritos inicialmente, únicamente uno cumplía los criterios de inclusión para la valoración de los efectos de los probióticos en la inducción de la remisión. Se estudia en dos grupos el efecto de *Lactobacillus GG* frente al efecto del placebo (40, 49), todos los participantes recibieron una semana antes de empezar con el probiótico y el placebo un tratamiento con corticoesteroides (eficaces, pero con numerosos efectos secundarios) y con antibióticos (se asumió en un principio que la EII era desencadenada por una bacteria patógena), únicamente 5 de los 11 participantes acabaron el estudio y el resultado de éste no mostro una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

En el mantenimiento de la remisión sí que se ha podido encontrar un mayor estudio clínico de los efectos de los probióticos tras la inducción médica y quirúrgica de la forma activa de la enfermedad (41, 49). En los estudios que enfrentaban la tasa de

brotos aparecidos tras la administración de probióticos y placebos, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos en pacientes donde la remisión había sido inducida previamente mediante cirugía (41). Los probióticos utilizados fueron *Lactobacillus GG* durante 12 meses, y, tampoco se encontró una diferencia en la utilización del mismo probiótico tras una previa remisión médica.

En otro estudio utilizando como probiótico *Saccharomyces boulardii* frente a un placebo tras la remisión médica con esteroides no se observó diferencia tanto en el porcentaje en cada grupo que sufrió brotes como en el tiempo de aparición de estos brotes (42).

En el caso de enfrentar la terapia combinada de probiótico más un fármaco convencional respecto a ese fármaco en solitario, los resultados apuntan a que no existe una diferencia en la cantidad de brotes descritos en los pacientes pertenecientes a ambos grupos, resultado apoyado en un estudio con un grupo tratado con *Saccharomyces boulardii* y mesalazina frente a otro grupo tratado con la misma dosis de mesalazina que en el grupo anterior (41).

Tras los resultados obtenidos en los estudios del uso de probióticos en la inducción y el mantenimiento de la remisión, teniendo en cuenta que incluyen un bajo número de participantes, no existe ninguna evidencia en la superioridad de la eficacia de estos frente a placebos o terapia farmacológica estándar.

## **5.6 TRANSPLANTE DE MICROBIOTA FECAL (TMF)**

El transplante de microbiota fecal consiste en la introducción de una suspensión de material fecal procedente de un donante sano en el tracto gastrointestinal de un receptor con una patología concreta, con el objetivo de manipular su microbiota restaurando las funciones propias de la microbiota de un individuo sano (43).

No tiene categoría de probiótico, ya que incluye a un número desconocido de bacterias no clasificadas, hongos, parásitos y virus, así mismo, no se conocen los microorganismos que ejercen una acción terapéutica (44).

Es una terapia prometedora en el tratamiento de enfermedades en las que la microbiota tiene un rol importante en el inicio de la enfermedad, es el caso de la EII y de infecciones como la de *Clostridium difficile* (CDI) (45). Los resultados en los estudios realizados en pacientes con CDI, han demostrado su alta eficacia en un elevado porcentaje de pacientes respecto al uso de la terapia estándar con antibióticos (45,46). El mecanismo de acción mejor descrito es de la restauración de la microbiota intestinal tras la disbiosis inducida por *Clostridium difficile* después de la introducción de un tratamiento multicepa de *Lactobacillus plantarum F44*, *Lactobacillus paracasei F8*, *Bifidobacterium breve 46*, *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis*. (46)

Los resultados positivos obtenidos en el tratamiento de CDI motivaron el intento de incluir esta terapia como una alternativa en la EII donde, como se ha descrito anteriormente, la microbiota desempeña un papel muy importante en la patogénesis y el manejo de la inflamación intestinal. Sin embargo, los resultados obtenidos en pacientes con la forma activa de la enfermedad a día de hoy son contradictorios, lo cual nos indica que los estudios realizados presentan limitaciones (tipo de estudio, muestra a estudiar, papel de donante) y el beneficio de la TMF en el tratamiento de la EII es incierto. (45, 47).

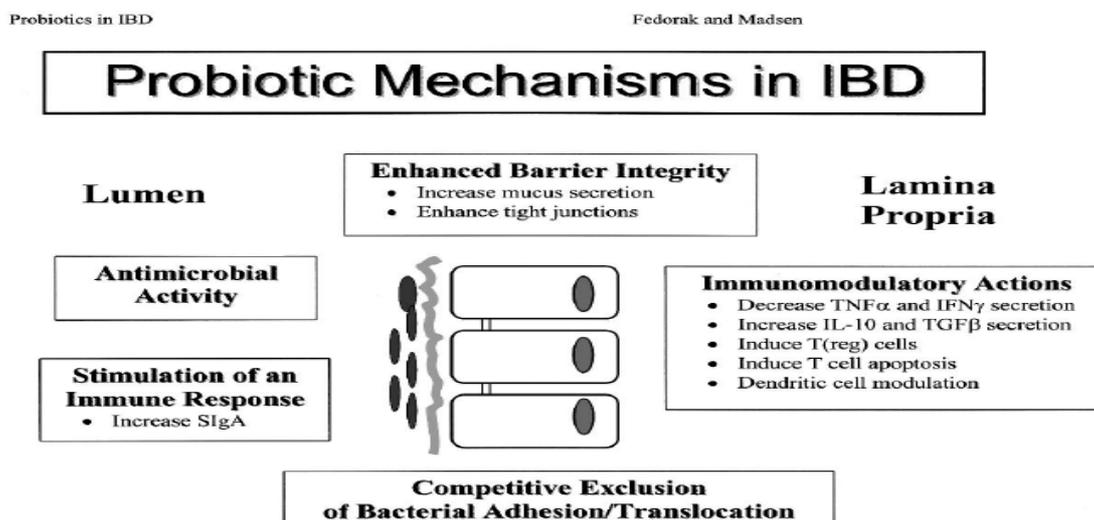
Authors	Diagnosis	Number of patients (P) or studies (S)*#	FMT route	Therapeutic regimen <sup>§</sup>	Outcome
Paramsothy et al. (2017b)	UC	n = 41 (S)	N.A	N.A	33% of clinical remission
Moayyedi et al. (2015)	CD	n = 11 (S)	N.A	N.A	52% of clinical remission
	UC	n = 70 (P)	Enema	50 g of feces/300 mL of water; once weekly for 6 weeks	24% of clinical remission
Paramsothy et al. (2017a)	UC	n = 85 (P)	Enema	150 mL <sup>§</sup> ; once a day, 5 days per week for 8 weeks	27% of clinical and endoscopic remission or response
Rossen et al. (2015)	UC	n = 50 (P)	Naso-duodenal tube	60 g of feces/500 mL of saline; two doses (days 0 and 21)	No statistical difference between control and treated patients
Vaughn et al. (2016)	CD	n = 19 (P)	Colonoscopy	50 g of feces/250 mL of saline; one dose	58% of clinical response (control group not included)
Cui et al. (2015)	CD	n = 30 (P)	Endoscopy	150–200 mL <sup>§</sup> ; one dose	86.7 and 76.7% of clinical improvement and remission, respectively at week 4
Suskind et al. (2015)	CD	n = 9 (P)	Nasogastric tube	30 g of feces/100 or 200 mL of saline; one dose	77.77% of clinical remission at week 2 55.55% of clinical remission at weeks 6 and 12

CD, Crohn's disease; N.A, Not applicable; UC, Ulcerative colitis. \*Both total number of patients for clinical trials and number of studies for systematic analysis or meta-analysis were included. #Includes the number of control patients. §Feces may have undergone additional steps for FMT samples preparation. §Initial solution concentration is not available.

**Tabla 3.** Resultados de los estudios realizados con TMF en EII. (48)

## 5.7 MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS

La interacción entre los probióticos y el huésped es compleja. Cada probiótico presenta un mecanismo de acción diferente y parte de las funciones atribuidas son específicas de algunas especies y cepas.



**Figura 3.** Esquema de los mecanismos de acción de los probióticos en pacientes con EII. (54)

- Exclusión competitiva:

Los probióticos compiten con bacterias patógenas por ocupar el espacio físico de la luz intestinal sirviéndose de mecanismos como la secreción de compuestos con efecto

antimicrobiano, como bacteriocinas (producidas por Gram positivas como *Lactobacillus*), ácido acético y ácido láctico que poseen un gran efecto frente a Gram negativas (49). Entre las acciones de las bacteriocinas se incluye la formación de canales iónicos en la membrana plasmática, la inhibición de la síntesis de proteínas o la lisis celular. Además, compiten por ocupar el lugar de unión en los receptores de las células epiteliales (50). El tratamiento con probióticos, como *S.boulardii*, también tiene efectos positivos en la restauración de la microbiota prepatológica, como son las bacterias productoras de butirato (45).

- Modificación de la respuesta inmunitaria intestinal

Los probióticos ejercen un efecto inmunomodulatorio mediante la interacción con sus elementos celulares (células dendríticas, macrófagos, linfocitos). Ciertas cepas pueden interactuar directamente con linfocitos T o modificar la respuesta inmunitaria del huésped a través de la presentación antigénica en células dendríticas intestinales. Estas acciones se pueden traducir en efectos como:

- Un cambio en el perfil de moléculas anti y pro-inflamatorias secretadas, un aumento en la expresión de TGF- $\beta$ , de IL-10 y una disminución en la producción de citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-12, etc.). La incorporación de suplementos con probióticos como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *E.coli* incrementan los niveles de citoquinas antiinflamatorias, como IL-10, y disminuyen los niveles de citoquinas proinflamatorias en modelos de ratones a los que se les ha inducido la aparición de CU (45, 52). Algunas cepas con actividad probiótica se han relacionado con una disminución de los niveles de TNF- $\alpha$  y IFN- $\gamma$  en modelos de ratones con colitis. Entre estas se incluyen cepas de *Lactobacillus brevis* SBC 8803, *Lactobacillus fermentum*, *Bifidobacterium lactis*. (45, 51).
- Los probióticos regulan el reclutamiento y la actividad de los neutrófilos en la zona inflamada. Existe una clara asociación entre la patología de la EII y la acumulación de neutrófilos en las zonas donde la actividad inflamatoria se encuentra exacerbada (20,28). Se ha visto que los probióticos tienen un efecto positivo limitando el daño asociado a los neutrófilos con la capacidad para modular la producción de quimiotaxinas y activadores de neutrófilos como IL-8. *S.boulardii* produce un factor soluble que limita la síntesis de IL-8 mediada por NF- $\kappa$ B. (45)
- Un incremento en los niveles de producción de IgA en la lámina propia y su posterior secreción en la luz intestinal. Estos anticuerpos contribuyen a la homeostasis limitando la colonización de la superficie epitelial (21).
- Una regulación en el perfil de linfocitos Th1, Th2 y Th17 frente a los linfocitos T reguladores (Treg), desplazando el equilibrio a favor de estos últimos. Una de las actividades más destacadas de los probióticos en la reversión del estado inflamatorio de la EII mediante la disminución de los niveles de Th17, por ejemplo, con cepas de *B. breve* o de *L. acidophilus* (51).

- Mejoras en las propiedades de barrera

Reforzar y restaurar la barrera epitelial dañada es una vía potencial para limitar la respuesta inflamatoria tras el paso de bacterias hacia la lamina propia en pacientes con EII (50). Los probióticos pueden interactuar con las células epiteliales promoviendo la producción de mucus y péptidos antimicrobianos, como lisozimas, lactoferrina, beta-defensinas, y promoviendo la función de barrera que impide la

traslocación fuera de la luz intestinal. Se ha podido comprobar cómo en ratones deficientes en IL-10 que presentaban en el colón alteraciones en la función de la barrera intestinal, tras el suministro del preparado probiótico VSL#3 se producía la restauración de la función normal de barrera a través de la inducción en la síntesis de péptidos antimicrobianos (49).

## **5.8 LIMITACIONES EN LOS RESULTADOS OBTENIDOS**

Los resultados en los estudios que se han llevado a cabo en estos años atrás son prometedores en el mantenimiento de la remisión en la CU, pero en la Enfermedad de Crohn los resultados no muestran una mejoría que justifique el uso de los probióticos en la inducción o en el mantenimiento de la remisión. Una de las mayores limitaciones encontradas en la utilización de los probióticos es la gran variabilidad de resultados existente entre los estudios con respecto a las especies de probióticos utilizadas, la dosis y la duración de la terapia, la intervariabilidad del estado y desarrollo de la enfermedad y el tratamiento empleado. También encontramos limitaciones a la hora de diseñar los estudios en cuanto a la selección de la población de estudio, ya que en algunos estudios se incluye un bajo número de pacientes y un periodo de tiempo de estudio insuficiente lo que limita el poder estadístico y puede explicar las altas tasas de respuesta en el grupo placebo. Por todo esto, los resultados favorables obtenidos en los estudios deben ser tomados con cautela. (55,56)

## **6. CONCLUSIÓN**

Los avances en la caracterización de la microbiota intestinal y su papel en la patogénesis en la Enfermedad Inflamatoria Intestinal han puesto en relieve la posibilidad de utilizar probióticos en el abordaje terapéutico de esta enfermedad. Para intentar evaluar la aplicación de los probióticos se han realizado numerosos estudios, tanto en la forma activa de la enfermedad como en la remisión clínica, basados en el estudio comparativo del efecto de los probióticos frente a placebos, a la terapia estándar, o, con la combinación de la terapia estándar junto a probióticos. Otro de los puntos más destacados en el estudio de los probióticos es el de los mecanismos de acción que emplean en la reversión de la patología. Los resultados de estos estudios en el tratamiento de la Colitis Ulcerosa son prometedores, sin embargo, no se ha encontrado ninguna evidencia en el caso de la Enfermedad de Crohn.

Aún no existe una evidencia total de la eficacia de los probióticos debido a las limitaciones en el diseño y en la metodología en estos estudios. Es necesario realizar más estudios que superen las deficiencias de los anteriores y permitan evidenciar de forma inequívoca el potencial terapéutico de los probióticos en esta enfermedad.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**

1. Sepúlveda, Sofía E, Beltrán, Caroll J, Peralta, Alexis, Rivas, Paola, Rojas, Néstor, Figueroa, Carolina, Quera, Rodrigo, & Hermoso, Marcela A. (2008). Enfermedad inflamatoria intestinal: Una mirada inmunológica. *Revista médica de Chile*, 136(3), 367-375. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872008000300014>
2. Centro Médico - Quirúrgico de Enfermedades Digestivas <https://www.cmed.es/enfermedad-inflamatoria-intestinal.php>

3. Dolan, K. T., & Chang, E. B. (2017). Diet, gut microbes, and the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Molecular nutrition & food research*, *61*(1), 10.1002/mnfr.201600129.
4. Basso, P. J., Saraiva Câmara, N. O., & Sales-Campos, H. (2019). Microbial-Based Therapies in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease – An Overview of Human Studies. Recuperado 11 de junio de 2020, de *frontiers in Pharmacology* website:
5. Morgan, X. C., Tickle, T. L., Sokol, H., Gevers, D., Devaney, K. L., Ward, D. V., Reyes, J. A., Shah, S. A., LeLeiko, N., Snapper, S. B., Bousvaros, A., Korzenik, J., Sands, B. E., Xavier, R. J., & Huttenhower, C. (2012). Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome biology*, *13*(9), R79.
6. Rodríguez, J. M., Murphy, K., Stanton, C., Ross, R. P., Kober, O. I., Juge, N., Avershina, E., Rudi, K., Narbad, A., Jenmalm, M. C., Marchesi, J. R., & Collado, M. C. (2015). The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial ecology in health and disease*, *26*, 26050.
7. Kim, D., Zeng, M. Y., & Núñez, G. (2017). The interplay between host immune cells and gut microbiota in chronic inflammatory diseases. *Experimental & molecular medicine*, *49*(5), e339.
8. Zeng, M. Y., Inohara, N., & Nuñez, G. (2017). Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal immunology*, *10*(1), 18–26.
9. Pickard, J. M., Zeng, M. Y., Caruso, R., & Núñez, G. (2017). Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunological reviews*, *279*(1), 70–89.
10. den Besten, G., van Eunen, K., Groen, A. K., Venema, K., Reijngoud, D. J., & Bakker, B. M. (2013). The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of lipid research*, *54*(9), 2325–2340.
11. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2006). *Probióticos en los alimentos Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación* (pp. 3–5). Roma: FAO y OMS.
12. Agirre Lekue, M. C. A. L. (2016). Probióticos, prebióticos y simbióticos. Recuperado 11 de junio de 2020, de *elfarmacéutico.es* website: [https://elfarmacéutico.es/index.php/cursos/item/7600-probioticos-prebioticos-y-simbioticos#.Xui\\_lkUzbIU](https://elfarmacéutico.es/index.php/cursos/item/7600-probioticos-prebioticos-y-simbioticos#.Xui_lkUzbIU)
13. Liu, T. C., & Stappenbeck, T. S. (2016). Genetics and Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Annual review of pathology*, *11*, 127–148.
14. Yamamoto, S., & Ma, X. (2009). Role of Nod2 in the development of Crohn's disease. *Microbes and infection*, *11*(12), 912–918.
15. Rogler, G., Biedermann, L., & Scharl, M. (2018). New insights into the pathophysiology of inflammatory bowel disease: microbiota, epigenetics and common signalling pathways. *Swiss medical weekly*, *148*, w14599.
16. Cohen, L. J., Cho, J. H., Gevers, D., & Chu, H. (2019). Genetic Factors and the Intestinal Microbiome Guide Development of Microbe-Based Therapies for Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*, *156*(8), 2174–2189.

17. Burke, K. E., Boumitri, C., & Ananthakrishnan, A. N. (2017). Modifiable Environmental Factors in Inflammatory Bowel Disease. *Current gastroenterology reports*, 19(5), 21.
18. Rogler, G., Zeitz, J., & Biedermann, L. (2016). The Search for Causative Environmental Factors in Inflammatory Bowel Disease. *Digestive diseases (Basel, Switzerland)*, 34 Suppl 1, 48–55.
19. Magalhaes, Joao & Tattoli, Ivan & Girardin, Stephen. (2007). The intestinal epithelial barrier: How to distinguish between the microbial flora and pathogens. *Seminars in immunology*. 19. 106-15.
20. Tanoue, T., Umesaki, Y., & Honda, K. (2010). Immune responses to gut microbiota-commensals and pathogens. *Gut microbes*, 1(4), 224–233.
21. Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2015). *INMUNOLOGÍA celular t molecular* (8.ª ed., pp. 291–302). Elsevier.
22. Gálvez J. (2014). Role of Th17 Cells in the Pathogenesis of Human IBD. *ISRN inflammation*, 2014, 928461.
23. Cheng, H., Guan, X., Chen, D., & Ma, W. (2019). The Th17/Treg Cell Balance: A Gut Microbiota-Modulated Story. *Microorganisms*, 7(12), 583.
24. Zhang, S. L., Wang, S. N., & Miao, C. Y. (2017). Influence of Microbiota on Intestinal Immune System in Ulcerative Colitis and Its Intervention. *Frontiers in immunology*, 8, 1674.
25. Khan, I., Ullah, N., Zha, L., Bai, Y., Khan, A., Zhao, T., Che, T., & Zhang, C. (2019). Alteration of Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease (IBD): Cause or Consequence? IBD Treatment Targeting the Gut Microbiome. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 8(3), 126.
26. Fava, F., & Danese, S. (2011). Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: friend of foe?. *World journal of gastroenterology*, 17(5), 557–566.
27. Levy, M., Kolodziejczyk, A. A., Thaïss, C. A., & Elinav, E. (2017). Dysbiosis and the immune system. *Nature reviews. Immunology*, 17(4), 219–232.
28. Kaser, A., Zeissig, S., & Blumberg, R. S. (2010). Inflammatory bowel disease. *Annual review of immunology*, 28, 573–621.
29. Zeng, M. Y., Inohara, N., & Nuñez, G. (2017). Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal immunology*, 10(1), 18–26.
30. Gkouskou, K. K., Deligianni, C., Tsatsanis, C., & Eliopoulos, A. G. (2014). The gut microbiota in mouse models of inflammatory bowel disease. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 4, 28.
31. Weingarden, A. R., & Vaughn, B. P. (2017). Intestinal microbiota, fecal microbiota transplantation, and inflammatory bowel disease. *Gut microbes*, 8(3), 238–252.
32. Mallon, P., McKay, D., Kirk, S., & Gardiner, K. (2007). Probiotics for induction of remission in ulcerative colitis. *The Cochrane database of systematic reviews*, (4), CD005573.

33. Matthes, H., Krummnerl, T., Giensch, M., Wolff, C., & Schulze, J. (2010). Clinical trial: probiotic treatment of acute distal ulcerative colitis with rectally administered *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN). *BMC complementary and alternative medicine*, *10*, 13.
34. Tursi, A., Brandimarte, G., Giorgetti, G. M., Forti, G., Modeo, M. E., & Gigliobianco, A. (2004). Low-dose balsalazide plus a high-potency probiotic preparation is more effective than balsalazide alone or mesalazine in the treatment of acute mild-to-moderate ulcerative colitis. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, *10*(11), PI126–PI131.
35. Tursi, A., Brandimarte, G., Papa, A., Giglio, A., Elisei, W., Giorgetti, G. M., Forti, (2010). Treatment of relapsing mild-to-moderate ulcerative colitis with the probiotic VSL#3 as adjunctive to a standard pharmaceutical treatment: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *The American journal of gastroenterology*, *105*(10), 2218–2227.
36. Mardini, H. E., & Grigorian, A. Y. (2014). Probiotic mix VSL#3 is effective adjunctive therapy for mild to moderately active ulcerative colitis: a meta-analysis. *Inflammatory bowel diseases*, *20*(9), 1562–1567.
37. Scaldaferrri, F., Gerardi, V., Mangiola, F., Lopetuso, L. R., Pizzoferrato, M., Petito, V., Papa, A., Stojanovic, J., Poscia, A., Cammarota, G., & Gasbarrini, A. (2016). Role and mechanisms of action of *Escherichia coli* Nissle 1917 in the maintenance of remission in ulcerative colitis patients: An update. *World journal of gastroenterology*, *22*(24), 5505–5511.
38. Kruis, W., Fric, P., Pokrotnieks, J., Lukás, M. (2004). Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut*, *53*(11), 1617–1623.
39. Matthes, H., Krummnerl, T., Giensch, M., Wolff, C., & Schulze, J. (2010). Clinical trial: probiotic treatment of acute distal ulcerative colitis with rectally administered *Escherichia coli* Nissle1917(EcN). *BMC complementary and alternative medicine*, *10*.
40. Butterworth, A. D., Thomas, A. G., & Akobeng, A. K. (2008). Probiotics for induction of remission in Crohn's disease. *The Cochrane database of systematic reviews*, *2008*(3), CD006634.
41. Rolfe, V. E., Fortun, P. J., Hawkey, C. J., & Bath-Hextall, F. (2006). Probiotics for maintenance of remission in Crohn's disease. *The Cochrane database of systematic reviews*, (4), CD004826.
42. Bourreille, A., Cadiot, G., Le Dreau, G., Laharie, D., Beaugerie, L., Dupas, J. L., Marteau, P., Rampal, P., Moyses, D., Saleh, A., Le Guern, M. E., Galmiche, J. P., & FLORABEST Study Group (2013). *Saccharomyces boulardii* does not prevent relapse of Crohn's disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*, *11*(8), 982–987.
43. García-García-de-Paredes, A., Rodríguez-de-Santiago, E., Aguilera-Castro, L., Ferre-Aracil, C., & López-Sanromán, A. (2015). Trasplante de microbiota fecal. *PROGRESOS EN GASTROENTEROLOGÍA*, *38*, 123–134.

44. Valdovinos, M., Montijo, E., Abreu, A., Heller, S., González-Garay, A., Bacarreza, D. et al. (2017). Consenso mexicano sobre probióticos en gastroenterología. *Revista De Gastroenterología De México*, 82, 156–178.
45. Hudson, L. E., Anderson, S. E., Corbett, A. H., & Lamb, T. J. (2017). Gleaning Insights from Fecal Microbiota Transplantation and Probiotic Studies for the Rational Design of Combination Microbial Therapies. *Clinical microbiology reviews*, 30(1), 191–231.
46. Valdés-Varela, L., Gueimonde, M., & Ruas-Madiedo, P. (2018). Probiotics for Prevention and Treatment of Clostridium difficile Infection. *Advances in experimental medicine and biology*, 1050, 161–176.
47. Fang, H., Fu, L., & Wang, J. (2018). Protocol for Fecal Microbiota Transplantation in Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BioMed research international*, 2018, 8941340.
48. Basso, P. J., Câmara, N., & Sales-Campos, H. (2019). Microbial-Based Therapies in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease - An Overview of Human Studies. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1571.
49. Veerappan, G. R., Betteridge, J., & Young, P. E. (2012). Probiotics for the treatment of inflammatory bowel disease. *Current gastroenterology reports*, 14(4), 324–333.
50. Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of nutrition & metabolism*, 61(2), 160–174.
51. Owaga, E., Hsieh, R. H., Mugendi, B., Masuku, S., Shih, C. K., & Chang, J. S. (2015). Th17 Cells as Potential Probiotic Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Diseases. *International journal of molecular sciences*, 16(9), 20841–20858.
52. Zoumpopoulou, G., Foligne, B., Christodoulou, K., Grangette, C., Pot, B., & Tsakalidou, E. (2008). Lactobacillus fermentum ACA-DC 179 displays probiotic potential in vitro and protects against trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis and Salmonella infection in murine models. *International journal of food microbiology*, 121(1), 18–26.
53. Mikov, M. M., Stojančević, M. P., & Bojić, G. M. (2014). Probiotics as a Promising Treatment for Inflammatory Bowel Disease. *Hospital Pharmacology*, 1, 52–60.
54. MA, K., & MN, M. (2015). Probiotics: Insights on Probiotic Effects and Next Generation Therapy to Combat Inflammatory Bowel Diseases. *J Bacteriol Mycol*, 2, 1013.
55. Jia, K., Tong, X., Wang, R., & Song, X. (2018). The clinical effects of probiotics for inflammatory bowel disease: A meta-analysis. *Medicine*, 97(51), e13792.
56. Pagnini, C., Delle Fave, G., & Bamias, G. (2013). Probiotics in inflammatory bowel disease: Pathophysiological background and clinical applications. *World Journal of Immunology*, 3(3), 31-43.