



Revisión

Disbiosis intestinal en enfermos de Crohn pediátricos

Blanca Pueyo y Núria Mach

Estudis de Ciències de la Salut. Universitat Oberta de Catalunya (UOC). Barcelona. España.

Resumen

Introducción: La enfermedad de Crohn (EC) pediátrica es un desorden caracterizado por presentar inflamación crónica que puede afectar cualquier segmento del tracto gastrointestinal. La disbiosis intestinal es un factor implicado en la patogénesis multifactorial de esta enfermedad. Diferentes suplementos dietarios se han propuesto como terapia alternativa para inducir o mantener la remisión de la EC.

Objetivo: Revisar las evidencias científicas publicadas sobre disbiosis intestinal en pacientes de Crohn pediátricos y la eficacia de la terapia con suplementos dietarios (especialmente probióticos).

Material y métodos: Se ha realizado una extensa búsqueda de publicaciones científicas en las principales bases de datos electrónicas especializadas: NCBI, Elsevier, Scielo, Scirus y Science Direct.

Resultados y Discusión: Se ha observado en la población pediátrica de EC un aumento de Proteobacteria y una reducción de Firmicutes. Los resultados referentes a los phyla Bacteroidetes y Actinobacteria son divergentes. Referente al uso de suplementos dietarios, el uso de probióticos no ha mostrado ningún impacto positivo en la EC pediátrica.

Conclusiones: Los resultados publicados hasta la fecha referentes a la disbiosis intestinal en pacientes pediátricos de Crohn, contribuyen al mejor conocimiento y entendimiento de las modificaciones en la flora bacteriana. Sin embargo, no es posible definir una microbiota asociada o causante de la EC. Además, los resultados publicados hasta la fecha no aportan evidencias sólidas de la eficacia de los probióticos como terapia en dichos pacientes.

(*Nutr Hosp.* 2013;28:1820-1828)

DOI: 10.3305/nh.2013.28.6.6936

Palabras clave: *Disbiosis. Enfermedad de Crohn. Microbioma. Pediátrico. Probióticos.*

INTESTINAL DYSBIOSIS IN PEDIATRIC PATIENTS WITH CROHN'S DISEASE

Abstract

Introduction: Paediatric Crohn's disease is a disorder characterised by a chronic inflammation that can affect any part of the gastrointestinal tract. Intestinal dysbiosis is a key factor in the multifactorial pathogenesis of this disease. Different dietary supplements have been proposed as alternative therapy both on induction and on maintaining remission of this disease.

Objective: To review current scientific evidence of intestinal dysbiosis in paediatric Crohn's disease patients, as well as efficacy of dietary supplement therapy (especially probiotics).

Materials and Methods: Extensive search of scientific publications was performed in specialized electronic databases: NCBI, Elsevier, Scielo, Scirus and Science Direct.

Results and discussion: An increase of Proteobacteria and a reduction of Firmicutes were observed in Crohn's disease paediatric patients. However the results referring to phyla Bacteroidetes and Actinobacteria are disperse. Referring the use of dietary supplements, the use of probiotics did not show any positive impact in paediatric Crohn's disease patients.

Conclusions: A better knowledge and understanding of the bacterial flora modifications in paediatric Crohn's disease patients is possible with the current published results. However, it is not possible to define the precise microbiota associated or causing this disease. In addition, current results do not bring solid evidence of the efficacy of probiotic therapy in those patients.

(*Nutr Hosp.* 2013;28:1820-1828)

DOI: 10.3305/nh.2013.28.6.6936

Key words: *Crohn's disease. Dysbiosis. Microbiome. Pediatric. Probiotics.*

Correspondencia: Núria Mach.
INRA.

Batiment 440. Domaine de Vilvert. INRA.
78352 Yvelines. Francia
E-mail: nuria.mach@gmail.com

Recibido: 16-VII-2013.
1.ª Revisión: 29-VIII-2013
Aceptado: 29-VIII-2013.

Abreviaturas

- A: Abierto
CARD15: *caspase recruitment domain-containing protein 15*
CARD9: *caspase recruitment domain family member 9*
CC: Caso-Control
CP: Control con Placebo
CU: Colitis ulcerosa
DC: Doble Ciego
DHA: ácido docosahexaenoico
EC: Enfermedad de Crohn
EP: Estudio Piloto
ECA: Enfermedad de Crohn Activa
ECR: Enfermedad de Crohn en Remisión
EPA: Ácido eicosapentanoico
FASLG: *Fas ligand*
IBD: Enfermedad inflamatoria intestinal (*Inflammatory bowel disease*)
ICAM3: *intercellular adhesion molecule 3*
IgA: Inmunoglobulina A
LGG: *Lactobacillus GG*
MAPK13: *Mitogen-activated protein kinase 13*
NOD2: *nucleotide-binding oligomerization domain containing 2*
NR: No Randomizado
PFGE: *Pulsed-field Gel Electrophoresis*
PRF1: *perforin 1*
R: Randomizado
RT-qPCR: *Real-Time quantitative Polymerase Chain Reaction*
TGF- β 2: *Transforming growth factor β 2*
UFC: Unidades Formadoras de Colonia

Introducción

La enfermedad de Crohn (EC), junto con la colitis ulcerosa (CU), es uno de los subtipos clínico-patológicos mayoritarios de enfermedad inflamatoria intestinal (IBD). La IBD es un desorden del tracto gastrointestinal caracterizado por presentar inflamación crónica que puede afectar cualquier segmento del tracto gastrointestinal, desde la boca hasta el ano, con carácter discontinuo, afectando principalmente el íleon terminal y el colon^{1,2}. La inflamación crónica resulta del desequilibrio de la respuesta inmune a nivel del intestino, mediada por las células de Paneth, las epiteliales diferenciadas de tipo M y las células dendríticas (capaces de activar la maduración de Linfocitos T hacia Th1, Th2 o Th17), u otros desencadenantes ambientales, en sujetos genéticamente susceptibles³⁻⁵. La EC presenta habitualmente una inflamación segmentaria, existiendo áreas del intestino preservadas de la enfermedad entre los segmentos del intestino afectados. Es una enfermedad transmural, así que la inflamación afecta a todo el espesor de la pared intestinal, pudiendo evolucionar hacia la aparición de fístulas, abscesos y este-

nos^{6,7}. Se proponen tres patrones evolutivos: 1) no obstructivo/no fistulizante o inflamatorio; 2) obstructivo o fibroestenotante; 3) fistulizante^{7,8}. Louis y cols.⁹ han descrito el comportamiento de la enfermedad como inflamatorio en un 70% de los pacientes, obstructivo en un 17%, y fistulizante en un 13%. A mayor tiempo de evolución de la enfermedad, mayor probabilidad de que un patrón inflamatorio evolucione a un patrón estenosante y/o fistulizante^{1,9}. Aunque la distribución anatómica de la EC es bastante estable a lo largo del tiempo, el patrón evolutivo de la enfermedad varía substancialmente durante el curso de la misma^{9,10}. A nivel clínico, los pacientes suelen presentar diarreas recurrentes, dolor abdominal, pérdida de peso, y debilidad durante la fase activa de la enfermedad. En el caso de pacientes pediátricos, también hay que considerar un retraso en el crecimiento, un inicio tardío de la adolescencia, y una estatura reducida^{11,12}. El inicio de la EC suele presentarse alrededor de los 25-35 años de edad, sin embargo, en un 20-25% de los pacientes los síntomas aparecen durante la infancia¹¹⁻¹³. Su incidencia ha incrementado en la población pediátrica en los últimos 10 años¹⁴⁻¹⁶. La EC conlleva una elevada morbilidad, no presenta un tratamiento bien establecido, y las terapias médicas utilizadas actualmente para controlar la enfermedad conllevan múltiples efectos adversos¹². La primera línea de tratamiento de la EC en pacientes pediátricos se basa en la aplicación de glucocorticoides sistémicos, seguido de inmunomoduladores como la azatioprina o 6-mercaptopurina (6-MP) y de la mesalazina o derivados en caso de afectación de colon¹⁷. El tratamiento nutricional primario, consistente en la administración de una fórmula enteral durante un período no inferior a 6-8 semanas, es una opción terapéutica para la inducción de la remisión clínica de la EC pediátrica¹⁸. Los mecanismos de acción más probables atribuidos a la nutrición enteral parecen ser un efecto antiinflamatorio directo y/o la modificación de la composición y funcionalidad de la microflora intestinal^{19,20}. El tratamiento nutricional con suplementos enriquecidos con TGF- β 2 (en inglés, Transforming growth factor β 2) ha demostrado una remisión clínica de la EC pediátrica²¹, aunque no existen otros estudios controlados, ni disponibilidad de nuevos datos sobre la eficacia y seguridad a largo plazo de este tratamiento. Adicionalmente, Zachos y cols.²², en una revisión sobre la eficacia de la nutrición enteral para tratar la forma activa de la EC, concluye que los corticoesteroides son más efectivos. La terapia biológica, que corresponde a la administración de anticuerpos monoclonales que interactúan con proteínas específicas involucradas en el desarrollo de la enfermedad (e.g. anticuerpos monoclonales dirigidos contra el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), ha demostrado una eficacia significativa para inducir y mantener la remisión de la EC en pacientes pediátricos que no han respondido a la terapia convencional²³. Así por ejemplo Infliximab ha demostrado ser efectivo para inducir y mantener la remisión de EC pediátrica moderada o severa en pacientes resistente a

los esteroides, inmunoterapia y terapia nutricional, así como en la CU activa, grave y refractaria a tratamiento convencional^{17,23}. El Adalimumab ha demostrado ser efectivo en niños con EC activa y para el mantenimiento de la remisión, cuando se ha perdido la respuesta o son intolerantes a Infliximab^{17,23}. La eficacia de Adalimumab en la CU grave resistente a corticoides no ha sido evaluada y no está aún establecida.

Pese al creciente interés y esfuerzos para conocer más sobre la patogénesis de la EC y su etiología, el conocimiento actual de las bases biológicas y fisiológicas todavía es muy limitado. Se han realizado varios estudios de asociación genética para describir el determinismo genético de la EC. Así, polimorfismos en el gene *NOD2* (por sus siglas en inglés, nucleotide-binding oligomerization domain containing) o también conocido con el nombre *CARD15* (caspase recruitment domain-containing protein 15) podrían explicar entre el 25-50% de la variación por causas genéticas en los pacientes con EC²⁴. Además, el polimorfismo *IL-23R R381Q* del receptor de la interleucina-23 (*IL-23R*) podría conferir protección frente a la EC²⁵⁻²⁷. Recientemente, los cambios epigenéticos también se han implicado en la patogénesis de la EC^{27,28}. Se entienden como cambios epigenéticos cualquier alteración de la expresión génica, potencialmente hereditaria, que no se acompaña de modificaciones en la secuencia del ADN²⁷. Entre las diversas modificaciones epigenéticas, la metilación de las regiones CpG es el principal mecanismo epigenómico descrito en la EC. Nimmo y cols.²⁹, analizando los patrones de metilación del ADN extraído de la sangre de 40 mujeres adultas y 16 niñas, han descrito diferentes patrones de metilación en diferentes genes asociados con la respuesta inmune (e.g. *MAPK13* (Mitogen-activated protein kinase 13), *FASLG* (Fas ligand), *PRFI* (perforin 1) y el receptor de *IL-21*) al comparar pacientes de EC con los control. Paralelamente, Cooke y cols.³⁰, extrayendo el ADN de tejido rectal, han presentado evidencias de diferentes patrones de metilación en los promotores de genes previamente implicados en la susceptibilidad de la IBD (e.g. *CARD9* (caspase recruitment domain family, member 9), *ICAM3* (intercellular adhesion molecule 3), y el receptor β de *IL8*), sugiriendo que la alteración de su transcripción puede contribuir a la patogénesis de la IBD. En la misma línea, Lin y cols.³¹ han demostrado que las modificaciones en los patrones de metilación de las células B son muy importante en la activación y diferenciación de la respuesta inmunológica (e.g. ruta metabólica de *IL-12* y *IL-23*). Adicionalmente, Zahm y cols.³² han descrito la posible implicación de diferentes microARNs (pequeños fragmentos de ARN no codificantes) en la patogénesis de la EC pediátrica, pudiendo contribuir al inicio y progresión de la EC³².

Por otra parte se cree que la disbiosis intestinal, rotura del equilibrio entre bacterias intestinales comensales y patógenas, puede influir en la patogénesis de la EC pediátrica^{33,34}. *Grosso modo*, se ha observado que en la EC existe una reducción en la abundancia de miembros

del phylum Firmicutes y de las especies del género *Bifidobacterium*, mientras que aumentan miembros del phylum Proteobacteria^{33,35,36}. La administración de antibióticos en niños de menos de 1 año induce disbiosis intestinal y puede triplicar la prevalencia de IBD pediátrica, independientemente de la edad, el sexo y la región³⁷. Estos resultados coinciden con los presentados por Hildebrand y cols.³⁸, quienes confirman que una exposición temprana a antibióticos altera la función del sistema inmune y la colonización microbiana del intestino, incrementando el riesgo de disbiosis intestinal y EC pediátrica.

En individuos sanos, el intestino puede estar poblado por unas 1000 especies bacterianas distintas. La colonización y establecimiento del microbioma intestinal está prácticamente finalizada a la edad de 1 año³⁹. Cada individuo posee una diversidad única de especies microbianas, y establecida la microbiota es bastante difícil modificarla³⁹. Con el desarrollo y aplicación de tecnologías moleculares emergentes (pirosecuenciación del gen bacteriano rARN 16S y secuenciación entera del genoma o transcriptoma bacteriano), se está mejorando la caracterización del microbioma intestinal en sujetos sanos y enfermos^{12,39}. La metagenómica ha permitido agrupar los individuos en tres enterotipos, cada uno caracterizado por un ecosistema bacteriano diferente, con mayor abundancia del género *Bacteroides*, *Prevotella*, o *Ruminococcus*⁴⁰⁻⁴². Los phyla predominantes en el tracto intestinal de sujetos sanos son los Bacteroidetes (20%), los Firmicutes (40%) y los Actinobacteria (5%)¹³. Las funciones de la microbiota intestinal van desde la fermentación de aquellos compuestos nutricionales de difícil digestión en el colon, síntesis de vitaminas y aminoácidos esenciales, hasta otras menos relacionadas con la alimentación, como la regulación del sistema inmune local para evitar el crecimiento de microorganismos patógenos o procesos autoinmunes, e incluso la maduración del sistema nervioso a través de la secreción de moléculas neuroactivas. La formación del microbioma intestinal del recién nacido tiene lugar durante el nacimiento, cuando entra en contacto con los microorganismos presentes a su alrededor. En el caso de un parto natural, éstos proceden inicialmente del líquido ingerido en su paso por el canal del parto. En este escenario, las familias bacterianas dominantes en el intestino del recién nacido son anaeróbicas facultativas como Enterobacteriaceae, y Lactobacillaceae. De ser el nacimiento mediante cesárea, es la flora bacteriana de la piel de los padres, y el ambiente, la que predomina en la colonización inicial del intestino del recién nacido⁴³⁻⁴⁵. Sin embargo, actualmente no se sabe con certeza si esta exposición diferencial en la etapa inicial de la vida tiene algún impacto en el desarrollo subsiguiente de la microbiota, la maduración del sistema inmunológico o la predisposición a desarrollar disbiosis⁴⁶. Independiente del tipo de parto, el tipo de lactación (materna versus fórmula) y la suplementación con prebióticos y probióticos son factores determinantes del desarrollo, la composición y la acti-

vidad de la microbiota intestinal de los neonatos sanos^{43,44,47}. Así, se sabe que es posible modular la microbiota intestinal y controlar la inflamación del tracto gastrointestinal como respuesta directa a cambios en la dieta¹². Los probióticos y prebióticos se han propuesto como terapia para inducir la remisión en la fase activa de la EC pediátrica, así como para mantener la remisión, y/o prevenir las recidivas mediante su interacción con el microbioma intestinal⁴⁸⁻⁵⁰. Diferentes estudios han descrito que los probióticos y prebióticos pueden ejercer una acción competitiva con la flora comensal y patógena, influyendo en la respuesta inmunitaria^{51,52}. Sin embargo los datos no son consistentes, pudiendo ser consecuencia de diferencias en el diseño del estudio, las técnicas usadas, la fase de la enfermedad y su localización, y la población control usada.

Por ello, este artículo revisa y presenta la evidencia científica, publicada hasta el momento, sobre disbiosis intestinal en pacientes de Crohn pediátricos, con el objetivo de definir los cambios producidos en la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal de los pacientes enfermos. Secundariamente, en el artículo también se revisa el papel de los suplementos dietarios como probióticos y prebióticos en el tratamiento de la fase activa de la EC, así como terapia de mantenimiento en remisión después de tratamiento farmacológico o quirúrgico.

Material y métodos

Por lo expuesto anteriormente, hemos analizado las publicaciones de los últimos 20 años relacionadas con investigaciones y estudios sobre disbiosis intestinal en pacientes de Crohn pediátricos en las principales revistas y bases de datos como NCBI, Elsevier Journal, Scielo, Scirus y Science Direct. Para realizar esta búsqueda, se han considerado los estudios que relacionan la dieta y los suplementos dietarios (especialmente probióticos) con la patología mencionada. Las palabras clave utilizadas para la búsqueda fueron: “dysbiosis”, “microbiome”, “Crohn’s Disease”, “pediatric”, y “probiotics”. Además, se han analizado los conceptos de epigenómica, transcriptómica, genómica, y metagenómica para describir con más profundidad los mecanismos moleculares asociados con el efecto de los suplementos dietarios sobre el microbioma intestinal. Después de analizar más de 100 artículos, un total de 72 se han utilizado en la redacción de esta revisión por incluir datos más destacados y concluyentes.

Resultados y discusión

Diversidad de la microbiota intestinal en pacientes pediátricos con EC

La microflora intestinal de adultos con EC se viene estudiando desde hace años⁵³, mientras que en pobla-

ción pediátrica estos estudios son más recientes y menos abundantes. En la tabla I se recogen los estudios referentes a disbiosis intestinal en pacientes pediátricos con EC publicados en los últimos 20 años. Aunque las metodologías y los resultados difieren, se observó que la EC en niños de 9 a menos de 18 años implica un aumento del phylum Proteobacteria, particularmente debido a *Escherichia coli*. No obstante, Schippa y cols.⁵⁴ encontraron un porcentaje similar de esta especie en las biopsias tanto de pacientes enfermos como de controles. Dentro del phylum Proteobacteria, Wagner y cols.⁵⁵ reportaron un aumento de *Pseudomonas* spp en enfermos de EC, aunque la diversidad general de especies se vio reducida. La reducción del phylum Firmicutes, particularmente debido a *Faecalibacterium prausnitzii*, también es concordante en diferentes estudios (Schwiertz y cols.³³ y Kaakoush y cols.⁵⁶). Se puede sugerir que una reducción dramática en la cantidad de bacterias que aportan funciones metabólicas beneficiosas en el tracto gastrointestinal del huésped, puede estar relacionada con ciertas formas de IBD. El butirato, ácido graso de cadena corta producido por el metabolismo bacteriano, es una importante fuente energética para las células epiteliales del colon, y puede mejorar la integridad de la barrera epitelial y modular el sistema inmunológico gastrointestinal. Además, el butirato puede modular la inflamación en la IBD, posiblemente disminuyendo la producción de citoquinas pro-inflamatorias^{57,58}. *F. prausnitzii* es una de las bacterias comensales del intestino humano con mayor capacidad productora de butirato; siendo importante no sólo por el suministro de butirato al huésped, sino también por sus efectos antiinflamatorios^{33,56}.

Sin embargo, los resultados referentes a los phyla Bacteroidetes y Actinobacteria son dispares entre los diferentes estudios. Docktor y cols.⁵⁹, en un estudio referente a la disbiosis oral en estos pacientes, reportaron una disminución en la diversidad del microbioma oral, y una reducción de Fusobacteria y Firmicutes en el microbioma lingual de los pacientes.

La mayoría de los estudios revelan cambios en la población bacteriana de los pacientes pediátricos de EC comparados con los controles. Sin embargo es difícil establecer una disbiosis bien definida, asociada o causante de la EC. La falta de consistencia en los resultados puede deberse a la diferencia de diseños experimentales, material analizado (heces vs mucosa intestinal) y métodos utilizados para el estudio de diversidad y funcionalidad del microbioma intestinal. Así, por ejemplo, las comunidades bacterianas de las heces, reflejan la bacteriología del recto y no ofrecen demasiado conocimiento sobre la ecología de otras regiones intestinales con inflamación. Además, la concentración y diversidad bacteriana difieren entre las distintas regiones del intestino. Otros factores que pueden limitar la falta de concordancia entre los resultados, son el reducido número de sujetos incluidos, los posibles tratamientos previos o concurrentes que pueden alterar la homeostasis intestinal y por lo tanto la composición y

Tabla I
Alteraciones microbianas documentadas en pacientes de Crohn pediátricos

| Referencia | Año | Tipo de experimento | Sujetos | Muestra | Técnica | Resultados enfermos de Crohn |
|------------------|--------------------|-------------------------|---|---|---|---|
| Conte y cols. | 2006 ⁴⁹ | Cohorte CC ¹ | Edad media (9 años) ECA ² (n = 12) Controles (n = 7) | Biopsias del íleon, ciego y recto | Cultivo convencional (aeróbicos y anaeróbicos facultativos) Secuenciación gen rANR 16S | ↑ Bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas, particularmente <i>Escherichia coli</i> ↓ Bacterias anaeróbicas, particularmente <i>Bacteroides vulgatus</i> |
| Wagner y cols. | 2008 ⁵⁵ | CC | Edad media (11,7 años) ECA (n = 32) Controles (n = 36) | Biopsias del íleon | Secuenciación gen rANR 16S | ↑ <i>Pseudomonas</i> spp ↓ Diversidad de especies de <i>Pseudomonas</i> |
| Kirkwood y cols. | 2009 ⁷⁰ | CC | Edad media (11,6 años) ECA (n = 62) Controles (n = 54) | Biopsias del íleon, ciego y recto; y células mononucleares de sangre periférica | RT-qPCR ³ | ↑ <i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i> |
| Schippa y cols. | 2009 ⁸⁴ | CC | Edad media (12,5 años) ECA (n = 12) Controles (n = 19) | Biopsias del íleon, colon y recto | PFGE ² y RT-qPCR | = Porcentaje de cepas adhesivas de <i>Escherichia coli</i> , con variación de la capacidad adhesiva según la zona intestinal afectada |
| Ricanek y cols. | 2010 ⁷¹ | CC | Edad < 18 años ECA (n = 39) Controles (n = 38) | Biopsias del íleon terminal y colon | <i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i> IS900-specific RT-qPCR | Escasez <i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i> |
| Schwartz y cols. | 2010 ⁸³ | CC | Edad media (14 años) ECA (n = 21) ECR ² (n = 19) Controles (n = 25) | Fecal | RT-qPCR | ↑ <i>Escherichia coli</i> (<i>Escherichia</i> < Enterobacteriaceae < Proteobacteria)(ECA) ↓ <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> (<i>Faecalibacterium</i> < Clostridiaceae < Firmicutes) y especies de <i>Bifidobacterium</i> (ECA y ECR) |
| Docktor y cols. | 2012 ²⁹ | CC | Edad media (14 años) ECA (n = 40) Controles (n = 43) | Mucosa lingual y bucal | Secuenciación gen rANR 16S | ↓ Diversidad microbioma oral ↓ Fusobacteria y Firmicutes (mucosa lingual) |
| Kaakoush y cols. | 2012 ⁸⁶ | CC | Edad media (11,6 años) ECA (n = 19) Controles (n = 19) | Fecal | Secuenciación gen rANR 16S | ↑ Bacteroidetes (particularmente el género <i>Bacteroides</i>) y Proteobacteria (particularmente familia Enterobacteriaceae) ↓ Firmicutes, particularmente debido al género <i>Clostridia</i> |
| Negroni y cols. | 2012 ⁷² | CC | Edad media (13,1 años) ECA (n = 24) Controles (n = 23) | Biopsias del íleon y colon | <i>Adhesive-invasive test</i> <i>Western blot</i> e inmunohistoquímica RT-qPCR | ↑ Cepas bacterianas adhesivas-invasivas (posiblemente de <i>Escherichia coli</i>) |
| Papa y cols. | 2012 ⁸⁴ | CC | Edad media (12,7 años) ECA (n = 23) Controles (n = 24) | Fecal | Secuenciación gen rANR 16S | ↑ Enterobacteriales (ECA) ↑ Proteobacteria (ECA) ↑ Eubacteriaceae y Bifidobacteriaceae (ECR) |

¹CC, Caso-Control. ²ECA, Enfermedad de Crohn Activa. ³RT-qPCR, Real-Time quantitative Polymerase Chain Reaction. ⁴PFGE, Pulsed-field Gel Electrophoresis. ⁵ECR, Enfermedad de Crohn en Remisión

funcionalidad de la comunidad bacteriana, el desarrollo de la enfermedad, y los métodos de obtención de las muestras⁶⁰.

Efecto de los probióticos en el control de la EC

El conocimiento de mecanismos inflamatorios, y la alta incidencia de efectos secundarios derivados de los tratamientos con esteroides, han propiciado investigaciones para encontrar alternativas validas especialmente en el mantenimiento de las remisiones⁶¹. Se estima que un 40-70% de los pacientes pediátricos con IBD usan de forma regular tratamientos alternativos, incluidos los probióticos, para suplementar o reemplazar la medicación prescrita para la EC^{62,63}. Actualmente los probióticos estudiados incluyen cepas de *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*, y microorganismos que se han encontrado reducidos en estudios de la microbiota de pacientes enfermos de Crohn, como *F. Prausnitzii*. Las características de un probiótico son la adaptación a las condiciones del intestino y la adherencia al epitelio intestinal, la generación de sustancias antimicrobianas, la ausencia de resistencias transmisibles a antibióticos y, sobre todo, que existan ensayos clínicos que certifiquen que las expectativas derivadas de sus capacidades *in vitro*, se cumplen tras su administración en pacientes⁶⁴. Los probióticos pueden contrarrestar el proceso inflamatorio promoviendo la normalización y estabilización de la microbiota intestinal endógena, y la exclusión de patógenos; aumentando la degradación de antígenos enterales y alterando su inmunogenicidad; y reduciendo la secreción de mediadores inflamatorios^{43,52,65}. Sin embargo, los estudios son escasos, los resultados son dispersos, y la evidencia de su eficacia es insuficiente^{49,52}. Así, algunas fórmulas alimentarias para niños han intentado disminuir la inflamación de la mucosa intestinal mediante probióticos que estimulen una maduración de los linfocitos T naive a Th2. Estos linfocitos Th2 son capaces de estimular los linfocitos B de la lamina propia para diferenciarse en células plasmáticas y producir IgA secretora. En este sentido, se han buscado probióticos capaces de incrementar la concentración fecal de IgA secretora, una de las primeras y más importantes líneas de defensa en las superficies mucosas gracias a su capacidad de aglutinar e impedir el efecto deletéreo de bacterias endógenas, virus y toxinas microbianas^{66,67}. Las bacterias presentes en las preparaciones de probióticos utilizadas para el tratamiento de la EC incluyen *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* sp., y *Streptococcus* sp. En niños, *Lactobacillus* GG es el probiótico más estudiado⁵², incluso en EC; tabla II. El uso de la terapia con probióticos en pacientes pediátricos de EC se limita a un solo estudio randomizado controlado³⁹, que no mostró ningún impacto positivo en el mantenimiento de la remisión de dicha enfermedad al adicionar *Lactobacillus* GG a la terapia estándar de mantenimiento. Un pequeño estudio piloto abierto en el 2000⁶⁸ aportó resultados positivos en el tratamiento de

la EC pediátrica con este mismo probiótico; sin embargo, el diseño y el reducido tamaño de la muestra de dicho estudio son limitaciones que convierten los resultados en evidencias preliminares. Por el momento, aún no se ha podido demostrar la capacidad de adhesión de *Lactobacillus* GG en la superficie de la mucosa en pacientes pediátricos con EC.

Conclusiones

Los resultados publicados hasta la fecha referentes a la disbiosis intestinal en pacientes pediátricos de Crohn, contribuyen al mejor conocimiento y entendimiento de las modificaciones en la flora bacteriana de dichos pacientes. De hecho, los datos respaldan la hipótesis de que la disbiosis del microbioma intestinal puede ser relevante en la etiología y la patogénesis de la EC pediátrica. Sin embargo, con los resultados publicados hasta la fecha, no es posible definir una microbiota asociada o causante de la EC pediátrica. La falta de homogeneidad en el diseño experimental de los diferentes estudios podría ser una de las causas de la falta de consistencia de los resultados. Aún y así, dichos resultados representan interesantes descubrimientos que deben ser estudiados extensamente; pues el conocimiento de la distribución y funcionalidad de los microorganismos intestinales en pacientes con EC puede ser útil, no tan solo para identificar dianas antibióticas o antigénicas, sino también para conseguir una manipulación terapéutica de la flora intestinal mediante estrategias con suplementos dietarios.

De igual interés será seguir investigando en el campo de tratamientos no farmacológicos alternativos como son los probióticos; ya que los resultados publicados hasta la fecha no aportan evidencias sólidas de su eficacia en inducir o mantener la remisión en pacientes pediátricos de EC. De hecho, actualmente esta falta clara de evidencia hace que el uso de probióticos en niños con EC no se pueda recomendar. Sin embargo, hasta la fecha sólo se han estudiado un número limitado de cepas probióticas, y dado que los efectos de diferentes microorganismos probióticos no son equivalentes, los resultados no pueden ser generalizados. Así pues, futuros estudios a gran escala, controlados en dosis, viabilidad y otras variables críticas, serán cruciales para aportar la evidencia científica necesaria, requerida para determinar la eficacia de la cada vez mas usada estrategia terapéutica con probióticos.

Referencias

1. Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1785-94.
2. Hume G, Radford-Smith GL. The pathogenesis of Crohn's disease in the 21st century. *Pathology* 2002; 34: 561-7.
3. Shih DQ, Targan SR. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 390-400.

Tabla II
Suplementos dietarios en pacientes de Crohn pediátricos

| Referencia | Año | Tipo de experimento | Tratamiento probado (dosis) | | Sujetos | Duración tratamiento | Resultados |
|-------------------|--------------------|---|--|--------------------------|--|------------------------|---|
| | | | Grupo de estudio | Grupo placebo | | | |
| Gupta y cols. | 2000 ⁶⁸ | EP, ¹ NR, ² A ³ | LGG ⁴ (2 × 10 ¹⁰ UFC/día) | — | Edad media (14,5 años) ECA ⁵ LGG (n=4) | 6 meses | LGG mejora la función de la barrera intestinal y el estado clínico |
| Bousvaros y cols. | 2005 ³⁹ | R ⁶ , DC, ⁷ CP ⁸ | LGG (2 × 10 ¹⁰ UFC ¹⁰ + 295 mg inulina)/día) adicionado a la terapia de mantenimiento estándar | Inulina (2 × 355 mg/día) | Edad media (14,8 años) ECR ⁹ LGG (n=39) Placebo (n=36) | 2 años o hasta recaída | LGG no prolonga el tiempo de remisión cuando es administrado junto a la terapia estándar de mantenimiento |

¹EP, Estudio Piloto.

²NR, No Randomizado.

³A, Abierto.

⁴LGG, *Lactobacillus GG*.

⁵ECA, Enfermedad de Crohn Activa.

⁶R, Randomizado.

⁷DC, Doble Ciego.

⁸CP, Control con Placebo.

⁹ECR, Enfermedad de Crohn en Remisión.

¹⁰UFC, Unidades Formadoras de Colonias.

4. Khor B, Gardet A, Xavier RJ. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011; 474: 307-17.
5. Sewell GW, Marks DJ, Segal AW. The immunopathogenesis of Crohn's disease: a three-stage model. *Curr Opin Immunol* 2009; 21: 506-13.
6. Gasull MA, Gomollón F, Obrador A, Hinojosa J. Enfermedad inflamatoria intestinal. 3 ed. Madrid: Arán Ediciones S. A. 2007.
7. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus, and implications. *Gut* 2006; 55: 749-53.
8. Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ, et al. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis* 2000; 6: 8-15.
9. Louis E, Collard A, Oger AF, Degroote E, Aboul Nasr El Yafi FA, Belaiche J. Behaviour of Crohn's disease according to the Vienna classification: changing pattern over the course of the disease. *Gut* 2001; 49: 777-82.
10. Langholz E. Current trends in inflammatory bowel disease: the natural history. *Therap Adv Gastroenterol* 2010; 3: 77-86.
11. Sauer CG, Kugathasan S. Pediatric inflammatory bowel disease: highlighting pediatric differences in IBD. *Gastroenterol Clin North Am* 2009; 38: 611-28.
12. Hansen R, Thomson JM, El-Omar EM, Hold GL. The role of infection in the aetiology of inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 2010; 45: 266-76.
13. Comito D, Romano C. Dysbiosis in the pathogenesis of pediatric inflammatory bowel diseases. *Int J Inflamm* 2012; 2012: 687143.
14. Hildebrand H, Finkel Y, Grahnquist L, Lindholm J, Ekblom A, Askling J. Changing pattern of paediatric inflammatory bowel disease in northern Stockholm 1990-2001. *Gut* 2003; 52: 1432-4.
15. van der Zaag-Loonen HJ, Casparie M, Taminiou JA, Escher JC, Pereira RR, Derkx HH. The incidence of pediatric inflammatory bowel disease in the Netherlands: 1999-2001. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 302-7.
16. Chouraki V, Savoye G, Dauchet L, Vernier-Massouille G, Dupas JL, Merle V, et al. The changing pattern of Crohn's disease incidence in northern France: a continuing increase in the 10- to 19-year-old age bracket (1988-2007). *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1133-42.
17. Cabriada JL, Vera I, Domenech E, Barreiro-de Acosta M, Esteve M, Gisbert JP, et al. [Recommendations of the Spanish Working Group on Crohn's disease and ulcerative colitis on the use of anti-tumor necrosis factor drugs in inflammatory bowel disease]. *Gastroenterol Hepatol* 2013; 36: 127-46.
18. El-Matary W. Enteral Nutrition as a Primary Therapy of Crohn's Disease: The Pediatric Perspective. *Nutr Clin Pract* 2009; 24: 91-7.
19. Meister D, Bode J, Shand A, Ghosh S. Anti-inflammatory effects of enteral diet components on Crohn's disease-affected tissues in vitro. *Dig Liver Dis* 2002; 34: 430-8.
20. Lionetti P, Callegari ML, Ferrari S, Cavicchi MC, Pozzi E, de Martino M, et al. Enteral nutrition and microflora in pediatric Crohn's disease. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2005; 29: 173-5.
21. Hartman C, Berkowitz D, Weiss B, Shaoul R, Levine A, Adiv OE, et al. Nutritional supplementation with polymeric diet enriched with transforming growth factor-beta 2 for children with Crohn's disease. *Israel Medical Association Journal* 2008; 10: 503-7.
22. Zachos M, Tondeur M, Griffiths AM. Enteral nutritional therapy for induction of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; CD14000542.
23. Mahadevan U, Cucchiara S, Hyams JS, Steinwurz F, Nuti F, Travis SP, et al. The London Position Statement of the World Congress of Gastroenterology on Biological Therapy for IBD with the European Crohn's and Colitis Organisation: pregnancy and pediatrics. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 214-23.
24. Sun L, Roesler J, Rosen-Wolff A, Winkler U, Koch R, Thurigen A, et al. CARD15 genotype and phenotype analysis in 55 pediatric patients with Crohn disease from Saxony, Germany. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 492-7.
25. Dubinsky MC, Wang D, Picornell Y, Wrobel I, Katzir L, Quiros A, et al. IL-23 receptor (IL-23R) gene protects against pediatric Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 511-5.
26. Momozawa Y, Mni M, Nakamura K, Coppieters W, Almer S, Amininejad L, et al. Resequencing of positional candidates identifies low frequency IL23R coding variants protecting against inflammatory bowel disease. *Nat Genet* 2011; 43: 43-7.
27. Kellermayer R. Epigenetics and the developmental origins of inflammatory bowel diseases. *Can J Gastroenterol* 2012; 26: 909-15.
28. Ventham NT, Kennedy NA, Nimmo ER, Satsangi J. Beyond Gene Discovery in Inflammatory Bowel Disease: The Emerging Role of Epigenetics. *Gastroenterology* 2013; 145: 293-308.
29. Nimmo ER, Prendergast JG, Aldhous MC, Kennedy NA, Henderson P, Drummond HE, et al. Genome-wide methylation profiling in Crohn's disease identifies altered epigenetic regulation of key host defense mechanisms including the Th17 pathway. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 889-99.
30. Cooke J, Zhang H, Greger L, Silva AL, Massey D, Dawson C, et al. Mucosal genome-wide methylation changes in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 2128-37.
31. Lin Z, Hegarty JP, Yu W, Cappel JA, Chen X, Faber PW, et al. Identification of disease-associated DNA methylation in B cells from Crohn's disease and ulcerative colitis patients. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 3145-53.
32. Zahm AM, Thayu M, Hand NJ, Horner A, Leonard MB, Friedman JR. Circulating microRNA is a biomarker of pediatric Crohn disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2011; 53: 26-33.
33. Schwartz A, Jacobi M, Frick JS, Richter M, Rusch K, Kohler H. Microbiota in pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr* 2010; 157: 240-244 e241.
34. Papa E, Docktor M, Smillie C, Weber S, Preheim SP, Gevers D, et al. Non-invasive mapping of the gastrointestinal microbiota identifies children with inflammatory bowel disease. *PLoS One* 2012; 7: e39242.
35. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 13780-5.
36. Rehman A, Lepage P, Nolte A, Hellmig S, Schreiber S, Ott SJ. Transcriptional activity of the dominant gut mucosal microbiota in chronic inflammatory bowel disease patients. *J Med Microbiol* 2010; 59: 1114-22.
37. Shaw SY, Blanchard JF, Bernstein CN. Association Between the Use of Antibiotics in the First Year of Life and Pediatric Inflammatory Bowel Disease. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2687-92.
38. Hildebrand H, Malmborg P, Askling J, Ekblom A, Montgomery SM. Early-life exposures associated with antibiotic use and risk of subsequent Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2008; 43: 961-6.
39. Bousvaros A, Guandalini S, Baldassano RN, Botelho C, Evans J, Ferry GD, et al. A randomized, double-blind trial of Lactobacillus GG versus placebo in addition to standard maintenance therapy for children with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 833-9.
40. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473: 174-80.
41. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011; 334: 105-8.
42. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell* 2012; 148: 1258-70.
43. Isolauri E, Kirjavainen PV, Salminen S. Probiotics: a role in the treatment of intestinal infection and inflammation? *Gut* 2002; 50: 54-9.
44. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 61-7.

45. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 11971-5.
46. Walker AW, Lawley TD. Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis. *Pharmacol Res* 2013; 69: 75-86.
47. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006; 118: 511-21.
48. Rolfe VE, Fortun PJ, Hawkey CJ, Bath-Hextall F. Probiotics for maintenance of remission in Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; CD004826.
49. Mack DR. Probiotics in inflammatory bowel diseases and associated conditions. *Nutrients* 2011; 3: 245-64.
50. Romano C, Cucchiara S, Barabino A, Annese V, Sferlazzas C. Usefulness of omega-3 fatty acid supplementation in addition to mesalazine in maintaining remission in pediatric Crohn's disease: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7118-21.
51. Bousvaros A, Morley-Fletcher A, Pensabene L, Cucchiara S. Research and clinical challenges in paediatric inflammatory bowel disease. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 32-38.
52. Chen CC, Walker WA. Clinical applications of probiotics in gastrointestinal disorders in children. *Natl Med J India* 2011; 24: 153-60.
53. Keighley MR, Arabi Y, Dimock F, Burdon DW, Allan RN, Alexander-Williams J. Influence of inflammatory bowel disease on intestinal microflora. *Gut* 1978; 19: 1099-104.
54. Schippa S, Conte MP, Borrelli O, Iebba V, Aleandri M, Seganti L, et al. Dominant genotypes in mucosa-associated *Escherichia coli* strains from pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 661-72.
55. Wagner J, Short K, Catto-Smith AG, Cameron DJ, Bishop RF, Kirkwood CD. Identification and characterisation of *Pseudomonas* 16S ribosomal DNA from ileal biopsies of children with Crohn's disease. *PLoS One* 2008; 3: e3578.
56. Kaakoush NO, Day AS, Huinao KD, Leach ST, Lemberg DA, Dowd SE, et al. Microbial dysbiosis in pediatric patients with Crohn's disease. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 3258-66.
57. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermudez-Humaran LG, Gratadoux JJ, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 16731-6.
58. Miquel S, Martin R, Rossi O, Bermudez-Humaran L, Chatel J, Sokol H, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* and human intestinal health. *Curr Opin Microbiol* 2013; 16: 255-61.
59. Docktor MJ, Paster BJ, Abramowicz S, Ingram J, Wang YE, Correll M, et al. Alterations in diversity of the oral microbiome in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 935-42.
60. Tannock GW. The bowel microbiota and inflammatory bowel diseases. *Int J Inflam* 2010; 2010: 954051.
61. Beattie RM. Therapy of Crohn's disease in childhood. *Paediatr Drugs* 2000; 2: 193-203.
62. Gerasimidis K, McGrogan P, Hassan K, Edwards CA. Dietary modifications, nutritional supplements and alternative medicine in paediatric patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 155-65.
63. Day AS, Whitten KE, Bohane TD. Use of complementary and alternative medicines by children and adolescents with inflammatory bowel disease. *J Paediatr Child Health* 2004; 40: 681-4.
64. Suárez JE. Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. *Nutr Hosp* 2013; 28: 34-41.
65. Fedorak RN, Madsen KL. Probiotics and the management of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10: 286-99.
66. Malin M, Suomalainen H, Saxelin M, Isolauri E. Promotion of IgA immune response in patients with Crohn's disease by oral bacteriotherapy with *Lactobacillus GG*. *Ann Nutr Metab* 1996; 40: 137-45.
67. Rautava S, Arvilommi H, Isolauri E. Specific probiotics in enhancing maturation of IgA responses in formula-fed infants. *Pediatr Res* 2006; 60: 221-4.
68. Gupta P, Andrew H, Kirschner BS, Guandalini S. Is *Lactobacillus GG* helpful in children with Crohn's disease? Results of a preliminary, open-label study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 31: 453-7.
69. Conte MP, Schippa S, Zamboni I, Penta M, Chiarini F, Seganti L, et al. Gut-associated bacterial microbiota in paediatric patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2006; 55: 1760-7.
70. Kirkwood CD, Wagner J, Boniface K, Vaughan J, Michalski WP, Catto-Smith AG, et al. *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in children with early-onset Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 1643-55.
71. Ricanek P, Lothe SM, Szpinda I, Jorde AT, Brackmann S, Perminow G, et al. Paucity of mycobacteria in mucosal bowel biopsies from adults and children with early inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2010; 4: 561-6.
72. Negroni A, Costanzo M, Vitali R, Superti F, Bertuccini L, Tinari A, et al. Characterization of adherent-invasive *Escherichia coli* isolated from pediatric patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 913-24.