

Alteración de la microbiota intestinal y su relación con enfermedades gastrointestinales y hepatobiliares

Villalobos-Orozco, Mervin W.

Mervin W. Villalobos-Orozco
gastroenlinea2020@gmail.com
Intergastro, Colombia

Hepatología

Asociación Colombiana de Hepatología, Colombia
ISSN: 2711-2330
ISSN-e: 2711-2322
Periodicidad: Semestral
vol. 4, núm. 1, 2023
editor@revistahepatologia.com

Recepción: 23 Septiembre 2022
Aprobación: 01 Octubre 2022

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/774/7744045007/>

DOI: <https://doi.org/10.52784/27112330.168>

EDIMECO



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivar 4.0 Internacional.

Resumen: La interrupción de la simbiosis que existe entre el cuerpo humano y su microbioma puede resultar en una disbiosis, un desequilibrio en la interacción huésped-microbiota, que puede asociarse al desarrollo de diversas enfermedades como el síndrome de intestino irritable, hígado graso no alcohólico, enfermedad hepática alcohólica y cirrosis, entre otras. En ciertas condiciones patológicas y por múltiples factores de riesgo, la capacidad de autorregulación del intestino se puede alterar, contribuyendo al incremento de la permeabilidad con inflamación intestinal crónica. El diagnóstico y el tratamiento, así como la relación entre la permeabilidad intestinal, la disbiosis y las patologías gastrointestinales y hepatobiliares, todavía no tienen estudios clínicos validados o con el soporte científico adecuado, por lo que se realiza una revisión de la literatura con la finalidad de aportar conceptos que puedan orientar con respecto a la importancia del estudio del microbioma humano en estas enfermedades.

Palabras clave: microbioma, microbiota, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacterias*, factores de riesgo, disbiosis, enfermedades gastrointestinales, trastornos hepatobiliares, prebióticos, probióticos.

Abstract: Disruption of the symbiosis that exists between the human body and its microbiome can result in dysbiosis, an imbalance in the host-microbiota interaction, which may be associated with the development of various diseases such as irritable bowel syndrome, non-alcoholic fatty liver disease, alcoholic liver disease and cirrhosis, among others. In certain pathological conditions and due to multiple risk factors, the self-regulating capacity of the intestine may be lost, contributing to increased permeability with chronic intestinal inflammation. Its diagnosis and treatment as well as the relationship between intestinal permeability, dysbiosis and gastrointestinal and hepatobiliary pathologies have not been validated in clinical studies or have adequate scientific support, so a review of the literature is carried out in order to provide concepts that can guide with respect to the importance of the study of the human microbiome in these diseases.

Keywords: microbiome, microbiota, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, risk factors, dysbiosis, gastrointestinal diseases, hepatobiliary diseases, prebiotics, probiotics.

INTRODUCCIÓN

Múltiples estudios han demostrado que una flora intestinal equilibrada es esencial para la salud, lo que depende en gran parte de la composición y función de la microbiota intestinal [1]. La interrupción de la simbiosis que existe entre el cuerpo humano y su microbioma puede tener efectos perjudiciales, resultando en una disbiosis, un desequilibrio en la interacción huésped-microbiota [2], que puede asociarse al desarrollo de diversas enfermedades, como el síndrome de intestino irritable (SII), enfermedad inflamatoria intestinal (EII), enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD), enfermedad hepática alcohólica y cirrosis [3,4].

El intestino representa el más grande reservorio de microorganismos en el cuerpo, los que a su vez componen la microbiota. Esta cumple funciones importantes de metabolismo, inmunidad, cardiovascular y desarrollo neuronal, por lo tanto, entender su funcionamiento es primordial. La microbiota forma una red compleja junto con el sistema nervioso central (SNC), el nervioso autónomo y el entérico (con sus mecanismos neuroendocrino y neuroinmune), llamado el eje microbiota-intestino-cerebro [4,5]. Entre sus funciones, puede producir péptidos bioactivos como son los neurotransmisores (ácido gamma-aminobutírico, dopamina, noradrenalina, acetilcolina), ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente el acético, propiónico y butírico, aminoácidos de cadena ramificada y hormonas intestinales [4,6]. Los AGCC actúan como señalizadores que ingresan al sistema circulatorio, llegando a estimular el eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal (HPA), asimismo, pueden afectar directamente el sistema inmunológico de la mucosa, lo cual a su vez, puede afectar indirectamente la transmisión al SNC [4].

La composición de la microbiota se modifica según el órgano donde se encuentra. En el tracto gastrointestinal los microorganismos más predominantes son las bacterias, seguidas por las arqueas y las eucariotas. En el intestino humano sano, hasta el 90 % de la carga bacteriana luminal está constituida por *Bacteroidetes* (*Bacteroidales*, *Bacteroides* spp. y *Porphyromonadaceae*) y *Firmicutes* (*Lactococcus* spp., *Pediococcus* spp., *Lactobacillus* spp. y *Leuconostoc* spp.), y se asocian generalmente con estados saludables; por otra parte, el aumento de las proporciones de *Proteobacterias* (*Salmonella* spp., *Helicobacter* spp., *Vibrio* spp. y *Escherichia* spp.), que por lo general son menos frecuentes en el intestino humano, se asocian con inflamación y enfermedad [7-9].

Las enfermedades gastrointestinales y hepatobiliares siguen siendo una de las áreas de estudio más importantes en las interacciones entre el huésped y el microbioma, así como su relación con la permeabilidad intestinal y la disbiosis, sin embargo, ya que los mecanismos microbianos subyacentes en estos trastornos no están totalmente establecidos, se realiza esta revisión de la literatura.

DESBALANCE DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

En ciertas condiciones patológicas, la capacidad de autorregulación del intestino se puede perder, contribuyendo al incremento de la permeabilidad, facilitando así la inflamación intestinal crónica. Existen múltiples factores tanto extrínsecos como intrínsecos que modifican la microbiota, entre estos:

Susceptibilidad genética

Se sabe que la genética del huésped contribuye con la abundancia y la variación en la susceptibilidad a los patógenos. Se encuentran varias asociaciones entre los genes, el microbioma y el estado innato de la inmunidad del huésped, se cree que los genes modulan la composición del microbioma y la enfermedad asociada al microbioma [3]. Esta susceptibilidad genética se demuestra por el hecho de que el 10 % al 25 % de los familiares de primer grado de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) tienen permeabilidad intestinal aumentada [10].

Género

Los receptores de estrógenos se expresan en las células epiteliales intestinales. El estradiol regula la formación del epitelio y la expresión de moléculas de adhesión de las uniones estrechas (TJ, del inglés, *Tight Junctions*), por lo que en modelos experimentales, el sexo femenino es más resistente a las lesiones intestinales inducidas por la hipoxia y/o la acidosis [10].

Dieta

Después del nacimiento, la dieta es un factor fundamental para la formación de la microbiota intestinal, que se ajusta a la disponibilidad cambiante de nutrientes durante el crecimiento [3], por lo tanto, los compuestos de la dieta y el medio ambiente entran en estrecho contacto con el epitelio intestinal, formando los estímulos primarios que podrían perturbar la barrera intestinal (BI). La comida es una fuente importante de nutrientes, pero también sirve como modulador de diversas funciones fisiológicas en el tracto gastrointestinal, incluida la función de BI. Por ejemplo, el extracto entero de pimientos dulces reduce la resistencia eléctrica transepitelial (TEER). Los flavonoides, abundantes en la mayoría de vegetales, frutas, té verde y negro, vino tinto, chocolate y café, son un ejemplo de efectos beneficiosos sobre la barrera epitelial [11]; por otra parte, las deficiencias de algunas vitaminas como la D, la A y zinc, comprometen la BI con un mayor riesgo de infección e inflamación.

Edad

La colonización de la microbiota varía según la vía del parto (vaginal o cesárea) o de lactancia (artificial o materna), predominando en esta etapa las bifidobacterias. Con respecto a la diversidad taxonómica, es relativamente baja al nacer, pero aumenta con el tiempo, siendo el primer año de edad el período más importante del establecimiento y desarrollo de la microbiota intestinal [3]. Esta varía a lo largo de la vida de un individuo, de acuerdo a los estilos de vida, hábitos dietéticos, etc., lo cual puede contribuir al aumento de *Bacteroidetes* y *Firmicutes*.

Estrés

En general, la disfunción de la barrera intestinal es causada por la activación del factor liberador de corticotropina (CRF, del inglés, *Corticotropin Releasing Factor*). Tanto la liberación sistémica como periférica de CRF, junto con una amplia gama de mediadores químicos, están involucrados en las respuestas al estrés en modelos experimentales con efectos en tres niveles de la BI: composición de la capa de moco, secreción de iones y agua, y permeabilidad intestinal [11].

Ejercicio

En humanos, varios estudios demostraron que el ejercicio enriquece la diversidad de la microflora intestinal, la cual estuvo positivamente correlacionada con la ingesta de proteínas y los niveles de creatina quinasa [12].

Medicamentos

Algunos medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) como la aspirina y el ibuprofeno rompen los bordes en cepillo de las células entéricas, permitiendo que los microorganismos, las partículas de alimentos no digeridas y los contaminantes se vayan por el torrente sanguíneo; por otra parte, los anticonceptivos y los esteroides crean condiciones que favorecen la nutrición de los hongos, que causan daño al revestimiento [13]. La utilización de antibióticos es compleja, ya que destruye tanto los microorganismos patógenos como los beneficiosos, causando disbiosis [3]. La amoxicilina, la piperacilina, la ticarcilina, las cefalosporinas (excepto las cefalosporinas de quinta generación), los carbapenems y los lipoglicopéptidos facilitan el crecimiento excesivo de *Enterococcus* spp. y otros patógenos, mientras que el tratamiento con macrólidos y doxiciclina da lugar a una disminución del número de estas bacterias, pero también producen el agotamiento de los comensales intestinales beneficiosos, como *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* y *Clostridium scindens* y *difficile* [14].

Citocinas (TNF- α e IFN- γ)

Las citocinas inflamatorias alteran la estructura de las uniones estrechas, a través de la inducción de cambios en la composición de lípidos en los microdominios de membrana de las uniones estrechas [6]. El interferón gamma (IFN- γ) es una citocina proinflamatoria asociada con el aumento de la permeabilidad intestinal paracelular, debido a la redistribución de la proteína de las uniones estrechas; además, induce la internalización de las uniones estrechas y un aumento posterior en la permeabilidad intestinal [15]. Por su parte, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), induce la apoptosis y la inflamación de las células epiteliales intestinales, asimismo, interfiere con las uniones estrechas de la BI, a través de mecanismos como la reorganización del citoesqueleto [15].

Reclutamiento de células inmunitarias

Las respuestas de las células T *helper* 2 (Th2) contribuyen a la inflamación y disfunción gastrointestinal, no obstante, los AGCC controlan la producción de células T *helper*, anticuerpos y citocinas, y contribuyen al mantenimiento de la homeostasis de la mucosa intestinal [6]. Por otra parte, los mastocitos intestinales predisponen a un aumento de la permeabilidad intestinal y alergia alimentaria.

Interacción microbiota-huésped

Se ha detectado un sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado en enfermedades relacionadas con permeabilidad intestinal alterada. Las bacterias probióticas pueden reducir la permeabilidad intestinal, aumentar la resistencia a las uniones estrechas y reducir la permeabilidad celular, a través de la influencia sobre la organización del citoesqueleto y la producción de citocinas [10].

PERMEABILIDAD INTESTINAL

La permeabilidad intestinal aumentada se puede definir como la capacidad de la BI de permitir el paso de sustancias específicas [16]. Esta barrera está compuesta por una capa externa de moco con la microbiota intestinal comensal, péptidos antimicrobianos e inmuno-globulina A (IgA), que es la primera línea de defensa física que las partículas externas se encuentran cuando llegan a la luz intestinal, adicionalmente, evita que

las bacterias entren en contacto directo con las células epiteliales; además, está la capa central unicelular con células epiteliales especializadas y la lámina propia, donde residen las células inmunes innatas y adaptativas como células T, células B, macrófagos y células dendríticas [11,17].

La mucosa gastrointestinal tiene la compleja tarea de actuar como una barrera semipermeable que permite la absorción de nutrientes y la detección inmunológica, al tiempo que limita el transporte de antígenos y microorganismos potencialmente dañinos [11]. Por lo tanto, cuando la barrera intestinal se altera, se asocia a la patogénesis de varias enfermedades inflamatorias, intestinales y sistémicas [18].

Fisiopatología del intestino permeable

Como se mencionó, el intestino está conformado por una capa de moco y la capa de células epiteliales, conectadas entre sí a través de la membrana celular, estas a su vez se unen a la membrana basal mediante complejos proteicos o uniones intercelulares, que impiden la entrada de las sustancias hidrosolubles en el medio interno [18], y que se clasifican en tres grupos o complejos funcionales: las uniones estrechas conformadas por claudinas y ocludinas, las moléculas de adhesión de unión (JAM, del inglés, *Junctional Adhesion Molecules*) y los desmosomas [11,16]. Existen dos vías de permeabilidad; la transcelular y la paracelular. La transcelular es la absorción y el transporte activo de nutrientes a través de la célula epitelial, y la paracelular está asociada con el transporte de solutos por difusión pasiva por el espacio intercelular, a través de la barrera intestinal [15,17,18] (figura 1).

Todos los factores tanto exógenos como endógenos explicados anteriormente, promueven la liberación de citocinas y quimiocinas proinflamatorias, las cuales afectan la regulación de las uniones estrechas entre los enterocitos, y aumentan la permeabilidad epitelial, de forma que los antígenos luminales y toxinas bacterianas pueden atravesar la barrera e inducir una respuesta inflamatoria intestinal (figura 1).

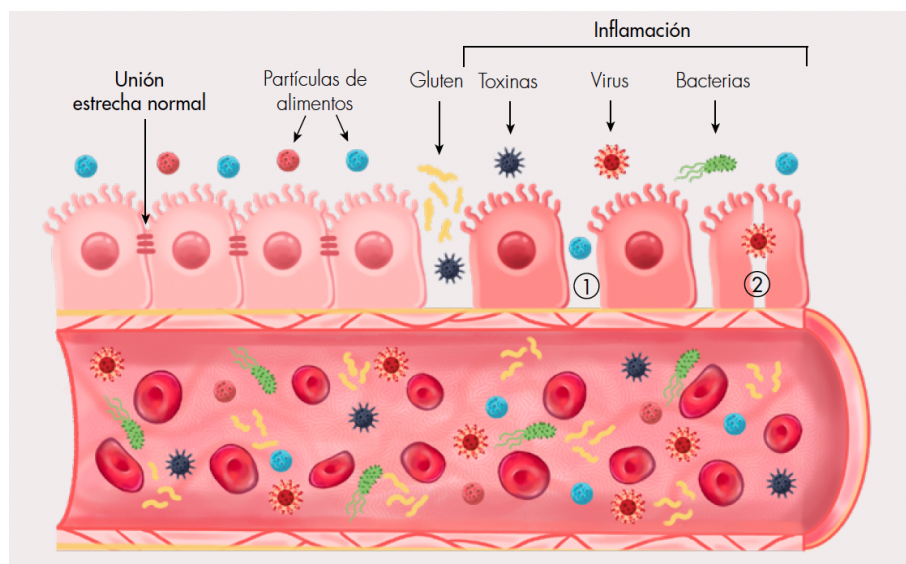


FIGURA 1.

Fisiopatología del intestino permeable. 1) Paracelular, 2) transcelular.

Permeabilidad intestinal y daño hepático

La interacción entre el intestino y el hígado ha sido ampliamente reconocida, el hígado está constantemente expuesto a nutrientes, toxinas, antígenos derivados de los alimentos, productos microbianos y microorganismos que provienen del tracto gastrointestinal [15,19]. El aumento de la permeabilidad intestinal y la microbiota intestinal disbiótica, pueden promover la translocación de bacterias (migración de microorganismos o sus productos hacia los ganglios linfáticos mesentéricos) y el paso de endotoxinas

como lipopolisacáridos (LPS) y patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), hacia el sistema venoso portal y sitios extraintestinales [7,9,15,20,21]. Estos productos normalmente son eliminados por la respuesta inflamatoria de un gran número de macrófagos (células de Kupffer), células dendríticas, linfocitos y *natural killers* [22], pero el hígado también produce una respuesta proinflamatoria en el parénquima hepático, liberando citocinas como el TNF- α y la interleucina 8 en la circulación sistémica [19,23]; además, se reduce la activación del receptor X farnesiloide (FXR) de los ácidos biliares y del receptor acoplado a proteína G de membrana (GPCR, del inglés, *G-Protein-Coupled Receptors*), lo que conduce a la disminución de la síntesis de ácidos biliares secundarios, retención de sales biliares, translocación intestinal y sobrecrecimiento bacteriano, que juega un papel importante en la patogénesis de la enfermedad hepática, ya que el hígado enfermo no puede inhibir eficazmente el crecimiento excesivo de bacterias y eliminar los subproductos microbianos nocivos [4,15,18].

ALTERACIÓN DE LA MICROBIOTA Y LA BARRERA INTESTINAL EN ENFERMEDADES GASTROINTESTINALES Y HEPATOBILIARES

Enfermedad celíaca

La enfermedad celíaca (EC) es una enteropatía crónica inmunomediada del intestino delgado, desencadenada por la ingestión de gluten en la dieta de individuos genéticamente predispuestos a padecerla. En condiciones normales, el transporte de la fracción tóxica de gliadina del gluten a la lámina propia es limitado, pero los pacientes con EC tienen una permeabilidad aumentada y defectos en las uniones estrechas, lo que podría permitir una mayor interacción de los péptidos de gliadina con el sistema inmunitario. Otro mecanismo alternativo implica la formación de complejos de gliadina con IgA, lo cual promueve el transporte de péptidos de gliadina a la lámina propia [11].

Síndrome de intestino irritable

El SII es una enfermedad funcional común, que afecta entre el 4 % al 10 % de la población mundial y se asocia con una marcada reducción de la calidad de vida [24]. Recientemente se ha descrito como una alteración del eje microbiota-intestino-cerebro, ya que los factores como los AGCC, las enzimas y neurotransmisores como la serotonina, la dopamina, la acetilcolina, el glutamato, el ácido γ -aminobutírico (GABA) y la noradrenalina, se ven potencialmente afectados por alteraciones en la composición de la microbiota, lo cual es detectado por el nervio vago, principal modulador del eje [24,25].

Así mismo, existen varios mecanismos por los que se cree que los alimentos puedan alterar la microbiota en el SII, entre estos: los efectos locales causados por oligosacáridos, disacáridos, monosacáridos y polioles fermentables (FODMAP), que tienen un efecto osmótico en la luz del intestino delgado, al aumentar el contenido de agua e introducir partículas de alimentos no digeridos en las bacterias, que las fermentan fácilmente, induciendo la producción de gas en el colon, lo cual provoca dolor abdominal como consecuencia de una hipersensibilidad visceral [25]. Además, la biología molecular ha revelado la presencia de alteraciones estructurales y funcionales de la barrera epitelial intestinal, y una leve activación del sistema inmunitario tanto a nivel local en la mucosa intestinal como a nivel sistémico. También se cree que las proteasas derivadas de la disbiosis contribuyen a la pérdida de la función de barrera, activación inmune y generación de síntomas a través de la activación de receptores activados de proteasas (PAR) [25]. En la actualidad, no existe una cura definitiva para el SII, solo puede tratarse con antiespasmódicos y bloqueadores de los canales de calcio, y con antidepresivos como los inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) y los antidepresivos tricíclicos (ATC) [26].

Enfermedad inflamatoria intestinal

El hallazgo más consistente en los pacientes con EII es la disminución de la diversidad de la microbiota, caracterizada principalmente por una disminución de las bacterias con capacidad antiinflamatoria como los *Firmicutes*, y un aumento de las proinflamatorias como las *Proteobacterias* [27]. Así mismo, se encuentra una disminución de la producción de AGCC que afecta tanto la expansión y la diferenciación de las células T reguladoras, como el crecimiento de las células epiteliales que juegan un papel fundamental en la homeostasis intestinal. También se encuentra en estos pacientes un incremento en los niveles de sulfato de hidrógeno, debido a una disminución de las bacterias reductoras de sulfato como *Desulfovibrio* spp., lo cual ocasiona daño de las células epiteliales e induce inflamación. Por otro lado, también es importante mencionar el efecto de las terapias usadas, destacando el efecto de la mesalazina en la microbiota intestinal, evidenciando la inhibición del crecimiento de *Micobacterium avium*, el cual está íntimamente ligado con la etiología de la EII [28].

Enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD)

El hígado graso está causado por el exceso de calorías, la obesidad y la falta de ejercicio. Los mecanismos por los cuales se desarrolla el hígado graso incluyen la exposición a citoquinas inflamatorias, la resistencia a la insulina, el estrés oxidativo, la lipotoxicidad debida principalmente a los ácidos grasos libres, y la predisposición genética, no obstante, la exposición del hígado a las endotoxinas de las bacterias intestinales [19], asociada a inflamación persistente del hígado, la disbiosis intestinal (con elevada proporción de *Firmicutes/Bacteroidetes*) y la permeabilidad intestinal, contribuyen a la progresión de la enfermedad a esteatohepatitis no alcohólica (NASH), fibrosis, cirrosis, y eventualmente a carcinoma hepatocelular (CHC) [7,8,29].

Se ha encontrado que la permeabilidad intestinal se correlaciona con la gravedad de la enfermedad hepática e interrupción de las uniones estrechas, además, se han identificado niveles más altos de endotoxinas en la sangre de pacientes con NAFLD como medida indirecta del aumento de la translocación de bacterias [11,30]. Con respecto a la relación entre disbiosis y la NAFLD, Jiang y colaboradores [31] investigaron el papel de la prolil endopeptidasa (PREP), una enzima que interviene en la homeostasis metabólica del intestino, encontrando correlación entre la microbiota intestinal y la patogénesis y progresión de NAFLD. Se ha propuesto la PREP como posible objetivo para el tratamiento de la NAFLD, ya que la alteración del gen *PREP* puede promover la abundancia de varias bacterias beneficiosas productoras de butirato y reducir la inflamación hepática, además, mejorar la lipogénesis hepática y la señalización AMPK/SIRT1 (implicada en la esteatosis hepática) [2].

Enfermedad hepática asociada al alcohol

Los mecanismos por los cuales el consumo de alcohol lleva a lesión hepática y progresión no se entienden completamente, ya que solo alrededor del 30 % de los consumidores excesivos desarrollan clínicamente enfermedad hepática como esteatohepatitis y cirrosis [7]. Ante la ingesta persistente de alcohol, la esteatohepatitis puede evolucionar hacia fibrosis y cirrosis, que finalmente lleva a desarrollar hipertensión portal e insuficiencia hepática [8,32,33]. Se cree que el etanol y sus metabolitos, el acetaldehído y los ésteres etílicos de ácidos grasos, interrumpen las uniones estrechas epiteliales (occludinas y claudinas) ocasionando daño tisular oxidativo mediado por el óxido nítrico, también producen alteraciones del citoesqueleto y daños celulares directos, con el aumento de la permeabilidad intestinal, contribuyendo a la patogenia, además, el consumo de alcohol puede aumentar las bacterias intestinales y causar disbiosis fúngica [7,8,34], con cambios en la composición de la microbiota intestinal y la translocación de productos bacterianos a la sangre portal.

En modelos experimentales con ingesta crónica de etanol, los *Bacteroidetes* fecales disminuyeron junto con los *Firmicutes*, mientras que las *Proteobacterias* y las *Actinobacterias* aumentaron [8].

Cirrosis hepática

Los pacientes con cirrosis hepática desarrollan un tiempo de tránsito intestinal más lento, sobrecrecimiento bacteriano y disbiosis en la BI, con alteración de los ácidos biliares en la circulación entero-hepática, induciendo un estado proinflamatorio con endotoxemia, enriquecimiento de *Proteobacterias* y *Fusobacterias*, y reducción de *Bacteroidetes*, que aumentan la permeabilidad intestinal y la translocación bacteriana, y favorecen complicaciones como encefalopatía hepática, hemorragia por várices, peritonitis bacteriana espontánea y síndrome hepatorenal [7,15,35].

Uno de los principales contribuyentes a las anomalías de las uniones estrechas en cirrosis hepática, es el aumento de la producción de TNF- α por parte de los monocitos en los ganglios linfáticos mesentéricos, lo que favorece la disminución de la expresión de proteínas como la ocludina, pero con aumento de las claudinas 2 y 8 [15]. En algunos estudios se encontró que los pacientes cirróticos con una diversidad microbiana reducida antes del trasplante de hígado, eran más propensos a desarrollar infecciones tras el trasplante [8,20]; también se ha reportado el aumento de familias potencialmente patógenas (*Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae*) en la saliva de pacientes cirróticos con antecedentes de encefalitis hepática u hospitalizaciones [8], y una disminución de las bacterias comensales no patógenas como *Ruminococaceae* y *Lactobacillus* spp. [20].

Encefalopatía hepática

La encefalopatía hepática (EH) es una complicación de la cirrosis, de la insuficiencia hepática aguda y la derivación portosistémica. Su presentación es muy variable, y va desde alteraciones cognitivas sutiles hasta el coma. La patogenia se ha relacionado con la hiperamonemia, no obstante, en los últimos años se ha hecho evidente que la interacción de la disbiosis intestinal, el intestino permeable y la neuroinflamación, también es de crucial importancia en su génesis [36]. Esto último se demuestra por los efectos beneficiosos que las terapias centradas en el intestino, como la lactulosa y el lactitol, antibióticos no absorbibles como la rifaximina y la neomicina, los probióticos y los prebióticos, tienen sobre la función cognitiva de los pacientes, mejorándola significativamente [22].

Carcinoma hepatocelular

La inflamación hepática sostenida que resulta de la permeabilidad intestinal crónica y la disbiosis intestinal puede promover la oncogénesis. El CHC se desarrolla con mayor frecuencia en pacientes con enfermedad hepática en etapa terminal. Los probables mecanismos de hepatocarcinogénesis en el contexto de la disbiosis, incluyen los metabolitos bacterianos alterados como el ácido desoxicólico (DCA), que es promotor de la hepatocarcinogénesis, así como un intestino permeable y la translocación bacteriana resultante, lo cual aumenta la inflamación hepática crónica a través de señales mediadas por la vía del receptor tipo Toll 4 (TLR4)-lipopolisacáridos (LPS) [8,9,34,37], no obstante, los estudios al respecto son escasos y no conclusivos.

Colangitis esclerosante y colangitis biliar primaria

Tanto la colangitis biliar primaria (CBP) como la colangitis esclerosante primaria (CEP) representan enfermedades hepáticas colestásicas crónicas mediadas por el sistema inmune, que se caracterizan por inflamación portal y progresan lentamente hacia fibrosis hepática y cirrosis. Entre las posibles causas o desencadenantes se incluyen: 1) la disbiosis intestinal, 2) un cambio en la composición de los ácidos biliares, 3) alteraciones en la composición de la microbiota biliar, y 4) diversos productos bacterianos desfavorables, como los PAMP y metabolitos. Se ha observado en estos casos que la disbiosis se revierte parcialmente durante el tratamiento con ácido ursodesoxicólico (UDCA) [1].

DIAGNÓSTICO

El estudio y caracterización del microbioma humano no ha sido sencillo. Además de que muchos microorganismos no pueden ser cultivados artificialmente fuera de su nicho ecológico, existe también una falta de estandarización de las técnicas, no obstante, el desarrollo de tecnologías como la metagenómica y los avances en protocolos para el diagnóstico precoz a través de biomarcadores asociados al microbioma, han permitido estudiar la microbiota y su relación con ciertos factores desencadenantes de disbiosis. En nuestro medio las opciones son limitadas; a continuación, se mencionan las más utilizadas.

La excreción urinaria fraccionada de sondas ingeridas por vía oral es el estándar de oro y puede usarse como una medida indirecta de la permeabilidad intestinal, estas sondas cruzan el epitelio intestinal por la vía paracelular, ingresan al torrente sanguíneo, son filtradas por el glomérulo y excretadas en la orina sin reabsorción activa en el riñón [17,38]. Las sondas más utilizadas son los sacáridos o azúcares no metabolizables como lactulosa y manitol. La absorción de lactulosa aumenta cuando la barrera epitelial paracelular está comprometida, mientras que el manitol, de menor tamaño, se absorbe constantemente independiente de la función de barrera. El valor de la relación lactulosa/manitol en la orina, se usa como un índice de alteración de la barrera intestinal [39]. Otros marcadores pueden ser el ácido etilendiamino tetraacético marcado con cromo (^{51}Cr -EDTA) y los polietilenglicoles (PEG) [11,17]. La excreción a las 0 a 2 horas refleja predominantemente la permeabilidad del intestino delgado, y a las 8 a 24 horas refleja casi exclusivamente la permeabilidad del colon [17].

Los niveles de transcripción de proteína y ARNm de las moléculas de las uniones estrechas, se pueden evaluar con transferencia por *Western blot* y PCR cuantitativa, respectivamente, así mismo por RT-qPCR y por una prueba desarrollada recientemente llamada Multiplex TaqMan qPCR (MTq-PCR) [38,40-42]. En Colombia, está disponible una prueba de secuenciación metagenómica a través de la tecnología NGS (del inglés, *Next-Generation Sequencing*), la cual realiza un análisis del microbioma intestinal mediante la secuenciación de la totalidad del material genético (ADN), lo que la hace un marcador indirecto de permeabilidad intestinal [43].

Del mismo modo, las concentraciones de citrulina o zonulina y de D-lactato en plasma o suero, se consideran como un marcador biocuantitativo de masa de enterocitos [11]. En heces, el marcador más estudiado es la calprotectina, que diferencia fácilmente la enfermedad inflamatoria intestinal del síndrome de intestino irritable, no obstante, no representa completamente la función del intestino, y los defectos de la barrera pueden ocurrir independientemente de la inflamación intestinal [11,38]. Otro marcador es la alfa-1-antitripsina (A1AT), que puede extravasarse del suero al intestino y servir de biomarcador de la permeabilidad intestinal [38]. También, se han empleado métodos de tinción inmunofluorescente utilizando anticuerpos específicos dirigidos contra varias proteínas de las uniones estrechas, para la visualización de la alteración [38].

Por otra parte, el sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado (SIBO, por sus siglas en inglés, *Small Intestinal Bacterial Overgrowth*), que es una manifestación de la disbiosis frecuentemente estudiada, puede ser la causa o la consecuencia de los trastornos gastrointestinales funcionales [44]. Para su estudio se utilizan cultivos cuantitativos de aspirado de yeyuno proximal con recuento bacteriano $\geq 10^5$ unidades formadoras de colonias por mL; sin embargo, las pruebas no invasivas como la prueba de aliento con glucosa y la prueba de aliento con lactulosa se han desarrollado para evitar la necesidad del examen endoscópico, y a su vez reducir el costo [22,45].

Finalmente, hay dos técnicas para medir endoscópicamente las barreras intestinales; la primera por endomicroscopía confocal, y la segunda por impedancia endoscópica de la mucosa. Sin embargo, no existe aún un estándar de oro actual con características claras de rendimiento de las pruebas para la función de barrera, y muchas de ellas no se encuentran disponibles en nuestro medio [17].

TRATAMIENTO

La dieta es un factor fundamental en la configuración de las bacterias intestinales. Aunque se ha asumido que la genética es importante, estudios recientes muestran que los factores ambientales, como el estilo de vida y la dieta, son dominantes [25,33]. Los cambios en los factores dietéticos pueden revertir la filtración intestinal y el daño de la mucosa en muchos trastornos [17], por lo que se han propuesto diferentes estrategias nutricionales como la modulación de la ingesta proteica (tanto en la restricción de proteínas como en la selección de proteínas específicas), el aumento de la ingesta de fibra y el uso de alimentos con efectos prebióticos y probióticos [22].

En lugar de eliminar los microbios intestinales potencialmente dañinos, otro enfoque es apoyar la colonización, el crecimiento y la función de los microbios beneficiosos mediante la administración de pre y probióticos [7,30]. Los prebióticos (lactulosa, lactitol, fructo-oligosacáridos y galacto-oligosacáridos) son sustratos alimenticios utilizados selectivamente por los microorganismos del huésped, capaces de aumentar el crecimiento y la actividad de los probióticos, causando alteraciones en la composición y actividad de la microbiota intestinal; por otro lado, los probióticos son microorganismos vivos que, al ser ingeridos en cantidades adecuadas, alteran la microflora confiriendo un efecto favorable en la salud [22]. Hay evidencia que los probióticos podrían detener la progresión de la NAFLD y posiblemente revertir la esteatosis hepática [46,47], no obstante, estos conceptos necesitarán grandes ensayos clínicos para probar su eficacia en enfermedades crónicas [11].

Los antibióticos se han utilizado en el tratamiento de algunas patologías hepáticas como la NAFLD. La neomicina y la polimixina B pueden disminuir notablemente la acumulación de lípidos hepáticos al reducir la translocación de la endotoxina en modelos murinos [48]. En un estudio clínico se encontró que la administración de antibióticos puede regular el nivel de ácido biliar secundario portal al suprimir las bacterias intestinales, atenuando así la inflamación y la fibrosis en el hígado, también pueden disminuir la translocación bacteriana y mejorar los parámetros clínicos en los pacientes con enfermedad hepática [49], no obstante, los antibióticos deben usarse con precaución, ya que podrían eliminar algunas especies bacterianas importantes relacionadas con el estado de salud y dar lugar a la presencia de algunas bacterias resistentes a los antibióticos [48].

Con respecto al manejo inicial de un episodio agudo de EH, debe incluir siempre una búsqueda exhaustiva de cualquier factor precipitante y su eliminación o corrección [22]. La lactulosa, utilizada para su tratamiento, hace que los microorganismos intestinales acidifiquen el colon, transformando el amoníaco difusible en iones de amonio que ya no pueden difundirse en la sangre, excretándose posteriormente en las heces [7]. También se ha demostrado que el antibiótico de acción local rifaximina, es una de las estrategias terapéuticas dirigidas a la microbiota intestinal en la EH [1].

Por otra parte, el trasplante de microbiota fecal (TMF) ha demostrado en ensayos clínicos en etapa inicial, los efectos potenciales en pacientes con cirrosis y EH, pero se están realizando más estudios necesarios para establecer la seguridad y la eficacia del tratamiento a largo plazo [7,29]. Las heces de un donante sano se transfieren a un receptor con el propósito de manipular la composición de la microbiota del destinatario y contribuir al tratamiento de su problema [50]. También ha demostrado ser eficaz en la EII, SII y NAFLD, sin embargo, en muchos ensayos controlados aleatorizados existen resultados contradictorios [25] e incluso la *Food and Drug Administration* (FDA) emitió una alerta sobre su uso, por el riesgo potencial de infecciones graves o mortales debido a la transmisión de organismos multirresistentes [51].

Otros tratamientos que se han utilizado podrían ser los moduladores directos de la barrera intestinal, como los antagonistas de la zonulina (modulador de uniones estrechas) o fosfatidilcolina (estabilizador de moco), que ahora se encuentran en la fase III de ensayos para enfermedad celíaca y colitis ulcerativa, respectivamente [11].

CONCLUSIÓN

La disbiosis y el aumento de la permeabilidad intestinal juegan un papel fundamental en la patogenia de los trastornos gastrointestinales y hepatobiliares al aumentar el nivel de metabolitos tóxicos que los producen, aún más, algunos estudios muestran que también pueden estar asociados a otras enfermedades autoinmunes como lupus, diabetes mellitus tipo 1, esclerosis múltiple [13] síndrome de fatiga crónica, fibromialgia, artritis, alergias, asma, acné, obesidad e incluso enfermedades mentales como depresión [52] y autismo [53,54], también se cree que están relacionadas con la severidad y las respuestas inmunes disfuncionales en COVID-19 [55,56]. En general, debemos ser conscientes de que cada vez son más los trastornos que se asocian con defectos de la barrera intestinal, pero todavía hay muchas preguntas sin resolver que ameritan mayores estudios.

REFERENCIAS

1. Konturek PC, Harsch IA, Konturek K, Schink M, Konturek T, Neurath MF, et al. Gut#liver axis: How do gut bacteria influence the liver? *Med Sci (Basel)* 2018;6:79. <https://doi.org/10.3390/medsci6030079>.
2. Andreola F, Moliterni C, Quagliariello A, Scaldaferri F, Fidaleo M. Editorial: The role of microbiota in the onset and development of intestine and liver diseases and cancer: Molecular and cell mechanisms. *Front Cell Dev Biol* 2022;10:852188. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.852188>.
3. Gomma EZ. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2020;113:2019-2040. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01474-7>.
4. Ding JH, Jin Z, Yang XX, Lou J, Shan WX, Hu YX, et al. Role of gut microbiota via the gut-liver-brain axis in digestive diseases. *World J Gastroenterol* 2020;26:6141-6162. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i40.6141>.
5. Gómez-Eguílaz M, Ramón-Trapero JL, Pérez-Martínez L, Blanco JR. El eje microbiota-intestino-cerebro y sus grandes proyecciones. *Rev Neurol* 2019;68:0111-0117. <https://doi.org/10.33588/rn.6803.2018223>.
6. Agudelo-Ochoa GM, Giraldo-Giraldo NA, Barrera-Causil CJ, Valdés-Duque BE. Microbiota intestinal y ácidos grasos de cadena corta en pacientes críticos. *Perspect Nutr Hum* 2016;18:205-222.
7. Chopyk DM, Grakoui A. Contribution of the intestinal microbiome and gut barrier to hepatic disorders. *Gastroenterology* 2020;159:849-863. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.04.077>.
8. Fukui H. Role of gut dysbiosis in liver diseases: What have we learned so far? *Diseases* 2019;7:58. <https://doi.org/10.3390/diseases7040058>.
9. Gupta H, Youn GS, Shin MJ, Suk KT. Role of gut microbiota in hepatocarcinogenesis. *Microorganisms* 2019;7:121. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7050121>.

10. Salles-Teixeira TF, Boroni-Moreira AP, Silva-Souza NC, Frias R, Gouveia-Peluzio Mdo C. Intestinal permeability measurements: general aspects and possible pitfalls. *Nutr Hosp* 2014;29:269-281. <https://doi.org/10.3305/nh.2014.29.2.7076>.
11. Vancamelbeke M, Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;11:821-834. <https://doi.org/10.1080/17474124.2017.1343143>.
12. Monda V, Villano I, Messina A, Valenzano A, Esposito T, Moscatelli F, et al. Exercise modifies the gut microbiota with positive health effects. *Oxid Med Cell Longev* 2017;2017:3831972. <https://doi.org/10.1155/2017/3831972>.
13. Paray BA, Albeshr MF, Jan AT, Rather IA. Leaky gut and autoimmunity: An intricate balance in individuals health and the diseased state. *Int J Mol Sci* 2020;21:9770. <https://doi.org/10.3390/ijms21249770>.
14. Mamieva Z, Poluektova E, Svistushkin V, Sobolev V, Shifrin O, Guarner F, et al. Antibiotics, gut microbiota, and irritable bowel syndrome: What are the relations? *World J Gastroenterol* 2022;28:1204-1219. <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i12.1204>.
15. Aguirre-Valadez JM, Rivera-Espinosa L, Méndez-Guerrero O, Chávez-Pacheco JL, García-Juárez I, Torre A. Intestinal permeability in a patient with liver cirrhosis. *Ther Clin Risk Manag* 2016;12:1729-1748. <https://doi.org/10.2147/tcrm.S115902>.
16. Salvo-Romero E, Alonso-Cotoner C, Pardo-Camacho C, Casado-Bedmar M, Vicario M. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. *Rev Esp Enferm Dig* 2015;107:686-696.
17. Camilleri M. Leaky gut: mechanisms, measurement and clinical implications in humans. *Gut* 2019;68:1516-1526. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318427>.
18. Tran CD, Grice DM, Wade B, Kerr CA, Bauer DC, Li D, et al. Gut permeability, its interaction with gut microflora and effects on metabolic health are mediated by the lymphatics system, liver and bile acid. *Future Microbiol* 2015;10:1339-1353. <https://doi.org/10.2217/fmb.15.54>.
19. Kessoku T, Kobayashi T, Tanaka K, Yamamoto A, Takahashi K, Iwaki M, et al. The role of leaky gut in nonalcoholic fatty liver disease: A novel therapeutic target. *Int J Mol Sci* 2021;22. <https://doi.org/10.3390/ijms22158161>.
20. Nishimura N, Kaji K, Kitagawa K, Sawada Y, Furukawa M, Ozutsumi T, et al. Intestinal permeability is a mechanical rheostat in the pathogenesis of liver cirrhosis. *Int J Mol Sci* 2021;22:6921. <https://doi.org/10.3390/ijms22136921>.
21. Wang Y, Zhang Y, Liu Y, Xu J, Liu Y. Gut-liver axis: Liver sinusoidal endothelial cells function as the hepatic barrier in colitis-induced liver injury. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:702890. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.702890>.
22. Campion D, Giovo I, Ponzo P, Saracco GM, Balzola F, Alessandria C. Dietary approach and gut microbiota modulation for chronic hepatic encephalopathy in cirrhosis. *World J Hepatol* 2019;11:489-512. <https://doi.org/10.4254/wjh.v11.i6.489>.
23. Patel VC, White H, Støy S, Bajaj JS, Shawcross DL. Clinical science workshop: targeting the gut-liver-brain axis. *Metab Brain Dis* 2016;31:1327-1337. <https://doi.org/10.1007/s11011-015-9743-4>.
24. Chen M, Ruan G, Chen L, Ying S, Li G, Xu F, et al. Neurotransmitter and intestinal interactions: Focus on the microbiota-gut-brain axis in irritable bowel syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2022;13:817100. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.817100>.
25. Randulff-Hillestad EM, van der Meeren A, Nagaraja BH, Bjørsvik BR, Haleem N, Benitez-Paez A, et al. Gut bless you: The microbiota-gut-brain axis in irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 2022;28:412-431. <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i4.412>.
26. Ghaffari P, Shoaie S, Nielsen LK. Irritable bowel syndrome and microbiome; Switching from conventional diagnosis and therapies to personalized interventions. *J Transl Med* 2022;20:173. <https://doi.org/10.1186/s12967-022-03365-z>.
27. Hrnčir T. Gut microbiota dysbiosis: Triggers, consequences, diagnostic and therapeutic options. *Microorganisms* 2022;10:578. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030578>.

28. Nishida A, Inoue R, Inatomi O, Bamba S, Naito Y, Andoh A. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin J Gastroenterol* 2018;11:1-10. <https://doi.org/10.1007/s12328-017-0813-5>.
29. Schupack DA, Mars RAT, Voelker DH, Abeykoon JP, Kashyap PC. The promise of the gut microbiome as part of individualized treatment strategies. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2022;19:7-25. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00499-1>.
30. Ilan Y. Leaky gut and the liver: a role for bacterial translocation in nonalcoholic steatohepatitis. *World J Gastroenterol* 2012;18:2609-2618. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i21.2609>.
31. Jiang D, Zhang J, Lin S, Wang Y, Chen Y, Fan J. Prolyl endopeptidase gene disruption improves gut dysbiosis and non-alcoholic fatty liver disease in mice induced by a high-fat diet. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:628143. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.628143>.
32. Hartmann P, Chen WC, Schnabl B. The intestinal microbiome and the leaky gut as therapeutic targets in alcoholic liver disease. *Front Physiol* 2012;3:402. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00402>.
33. Meroni M, Longo M, Dongiovanni P. Alcohol or gut microbiota: Who is the guilty? *Int J Mol Sci* 2019;20:4568. <https://doi.org/10.3390/ijms20184568>.
34. Méndez-Sánchez N, Valencia-Rodríguez A, Vera-Barajas A, Abenavoli L, Scarpellini E, Ponciano-Rodríguez G, et al. The mechanism of dysbiosis in alcoholic liver disease leading to liver cancer. *Hepatoma Res* 2020;6:5. <https://doi.org/10.20517/2394-5079.2019.29>.
35. Fukui H. Leaky gut and gut-liver axis in liver cirrhosis: Clinical studies update. *Gut Liver* 2021;15:666-676. <https://doi.org/10.5009/gnl20032>.
36. Mancini A, Campagna F, Amodio P, Tuohy KM. Gut : liver : brain axis: the microbial challenge in the hepatic encephalopathy. *Food Funct* 2018;9:1373-1388. <https://doi.org/10.1039/c7fo01528c>.
37. Yu LX, Schwabe RF. The gut microbiome and liver cancer: mechanisms and clinical translation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017;14:527-539. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.72>.
38. Wang L, Llorente C, Hartmann P, Yang AM, Chen P, Schnabl B. Methods to determine intestinal permeability and bacterial translocation during liver disease. *J Immunol Methods* 2015;421:44-53. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2014.12.015>.
39. Usuda H, Okamoto T, Wada K. Leaky gut: Effect of dietary fiber and fats on microbiome and intestinal barrier. *Int J Mol Sci* 2021;22:7613. <https://doi.org/10.3390/ijms22147613>.
40. Matsuda K, Tsuji H, Asahara T, Matsumoto K, Takada T, Nomoto K. Establishment of an Analytical System for the Human Fecal Microbiota, Based on Reverse Transcription-Quantitative PCR Targeting of Multicopy rRNA Molecules. *J Appl Environ Microbiol* 2009;75:1961-1969. <https://doi.org/doi:10.1128/AEM.01843-08>.
41. Haakensen M, Dobson CM, Deneer H, Ziola B. Real-time PCR detection of bacteria belonging to the Firmicutes Phylum. *Int J Food Microbiol* 2008;125:236-241. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.04.002>.
42. Jo YJ, Tägele SB, Pham HQ, Jung Y, Ibal JC, Choi S, et al. In situ profiling of the three dominant phyla within the human gut using TaqMan PCR for pre-hospital diagnosis of gut dysbiosis. *Int J Mol Sci* 2020;21:1916. <https://doi.org/10.3390/ijms21061916>.
43. Sharon G, Garg N, Debelius J, Knight R, Dorrestein Pieter C, Mazmanian Sarkis K. Specialized metabolites from the microbiome in health and disease. *Cell Metab* 2014;20:719-730. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.10.016>.
44. Shah A, Talley NJ, Holtmann G. Current and future approaches for diagnosing small intestinal dysbiosis in patients with symptoms of functional dyspepsia. *Front Neurosci* 2022;16:830356. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.830356>.
45. Maslennikov R, Ivashkin V, Efremova I, Poluektova E, Kudryavtseva A, Krasnov G. Gut dysbiosis and small intestinal bacterial overgrowth as independent forms of gut microbiota disorders in cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2022;28:1067-1077. <https://doi.org/10.3748/wjg.v28.i10.1067>.
46. Koch M. Gut microbiota and the liver: A tale of 2 cities: A narrative view in 2 acts. *J Clin Gastroenterol* 2016;50:S183-s187. <https://doi.org/10.1097/mcg.0000000000000699>.

47. Paoletta G, Mandato C, Pierri L, Poeta M, Di Stasi M, Vajro P. Gut-liver axis and probiotics: their role in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2014;20:15518-15531. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i42.15518>.
48. Song Q, Zhang X. The role of gut-liver axis in gut microbiome dysbiosis associated NAFLD and NAFLD-HCC. *Biomedicines* 2022;10:524. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030524>.
49. Schnabl B. Linking intestinal homeostasis and liver disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2013;29:264-270. <https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e32835ff948>.
50. Limas-Solano LM, Vargas-Niño CE, Valbuena-Rodríguez DC, Ramírez-López LX. Trasplante de microbiota fecal: una revisión. *Rev Col Gastroenterol* 2020;35:329-337. <https://doi.org/10.22516/25007440.486>.
51. U.S. Food and Drug Administration (FDA). Important safety alert regarding use of fecal microbiota for transplantation and risk of serious adverse reactions due to transmission of multi-drug resistant organisms. Maryland, Estados Unidos: FDA; 2019. Acceso 5 de septiembre de 2022. Disponible en <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/safety-availability-biologics/important-safety-alert-regarding-use-fecal-microbiota-transplantation-and-risk-serious-adverse>.
52. Chang L, Wei Y, Hashimoto K. Brain-gut-microbiota axis in depression: A historical overview and future directions. *Brain Res Bull* 2022;182:44-56. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2022.02.004>.
53. Al-Ayadhi L, Zayed N, Bhat RS, Moubayed NMS, Al-Muammar MN, El-Ansary A. The use of biomarkers associated with leaky gut as a diagnostic tool for early intervention in autism spectrum disorder: a systematic review. *Gut Pathog* 2021;13:54. <https://doi.org/10.1186/s13099-021-00448-y>.
54. Real-López M, Peraire M, Ramos-Vidal C, Nath D, Hervás A, Cortés X. Implicación de la disbiosis intestinal en la etiopatogenia y el tratamiento del trastorno del espectro autista: una revisión bibliográfica. *Rev Neurol* 2021;73:282-295.
55. Yeoh YK, Zuo T, Lui GC-Y, Zhang F, Liu Q, Li AY, et al. Gut microbiota composition reflects disease severity and dysfunctional immune responses in patients with COVID-19. *Gut* 2021;70:698-706. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-323020>.
56. Farsi Y, Tahvildari A, Arbabi M, Vazife F, Sechi LA, Shahidi Bonjar AH, et al. Diagnostic, prognostic, and therapeutic roles of gut microbiota in COVID-19: A comprehensive systematic review. *Front Cell Infect Microbiol* 2022;12:804644. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.804644>.