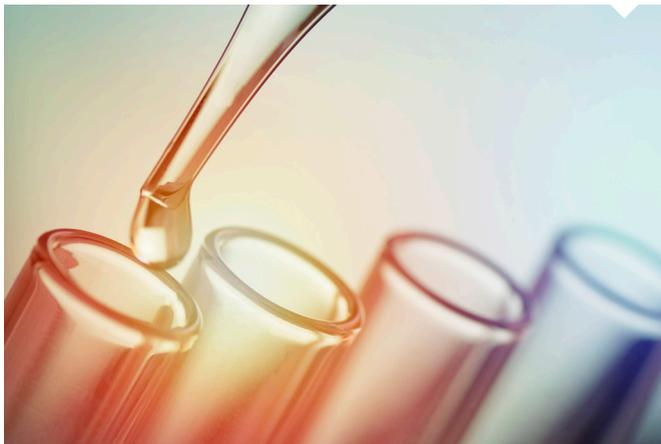
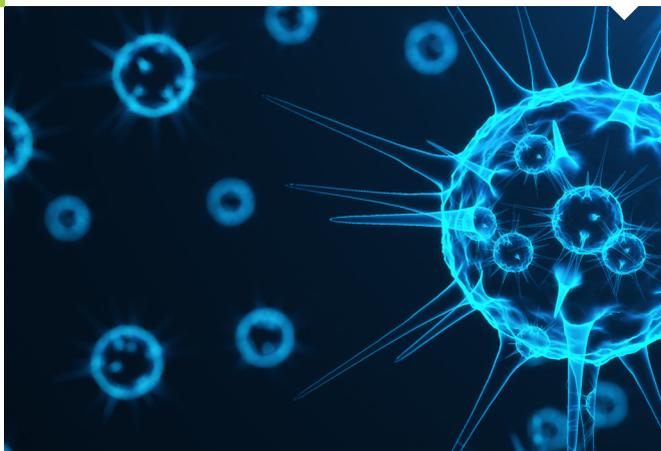


XXV

MONOGRAFÍAS
EN ESCLEROSIS MÚLTIPLE

**FACTORES
AMBIENTALES DE
LA ESCLEROSIS
MÚLTIPLE**



Con el aval científico
de la SEN



Sociedad Española
de Neurología

Patrocinado por: **MERCK**

Las manifestaciones aquí recogidas no reflejan necesariamente la opinión sustentada por Merck.

© *Copyright* 2019 de los autores. Monografía XXV



C/ Rosselló, 335, bajos. 08037 Barcelona
Telf.: 93 208 05 52 • Correo electrónico: info@ambosmarketing.com
ISSN: 1885-5520 • Depósito legal: B-6094-2019

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de producción, sin la autorización por escrito de los titulares del *copyright*.

Dr. José Carlos Álvarez Cermeño

Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria.
Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

Dr. Rafael Arroyo González

Hospital Universitario QuirónSalud. Hospital Ruber Juan Bravo. Madrid

Dr. Óscar Fernández y Fernández

Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA)
Hospital Regional Universitario de Málaga

Dr. Guillermo Izquierdo Ayuso

Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla

Dr. J. Antonio García Merino

Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Madrid

Dr. Sergio Martínez Yélamos

Hospital Universitario de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona

Dr. José Meca Lallana

Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Dra. Ester Moral Torres

Hospital de Sant Joan Despí Moisès Broggi. Barcelona

Dra. Celia Oreja Guevara

Hospital Clínico San Carlos. Madrid

Dr. José María Prieto González

Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela

Dr. Alfredo Rodríguez-Antigüedad Zarranz

Hospital Universitario Cruces. Barakaldo, Bizkaia

Dra. M.^a del Mar Tintoré Subirana

Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona

FACTORES AMBIENTALES DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

1. VIRUS 7

Autor | Roberto Álvarez-Lafuente

Editores | Rafael Arroyo González
José María Prieto González

2. VITAMINA D Y OTROS FACTORES AMBIENTALES

2.1. VITAMINA D 31

Autores | Cristina Croissier Elías
Silvia Pérez Pérez
Roberto Álvarez-Lafuente

2.2. FACTORES AMBIENTALES 57

Autora | Montserrat González Platas

Editores | Óscar Fernández y Fernández
Juan Antonio García Merino

3. MICROBIOTA Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE 75

Autores | Laura Moles Alegre
David Otaegui Bichot
Tamara Castillo-Triviño

Editores | Alfredo Rodríguez-Antigüedad Zarranz
José Carlos Álvarez Cermeño

Con esta monografía se inicia la novedad de presentar la misma con un prólogo, esencialmente por dos motivos: porque al Consejo Editorial le ha parecido muy didáctico que los lectores tengan desde el inicio una breve presentación del contenido, pero también porque esta edición es la número 25, y de alguna manera queremos celebrar la continuidad y solidez de esta publicación, tras superar diversos avatares y circunstancias con éxito.

Un éxito que viene dado por la gran aceptación que ha tenido entre los especialistas a los que va dirigida, especialmente neurólogos interesados en la esclerosis múltiple, pero también entre otros profesionales sanitarios: neuro-radiólogos, psiquiatras, rehabilitadores, psicólogos, biólogos, enfermería, fisioterapeutas, trabajadores sociales, etc.

Por tanto, celebremos que esta publicación se haya editado durante más de una década de forma ininterrumpida y lo va a seguir haciendo, si cabe, con mayor pujanza que cuando se inició. De hecho, se han remodelado y actualizado tanto su formato como su diseño, ofreciendo una imagen más dinámica, con gráficos y esquema didácticos más abundantes, que facilitan la lectura y la comprensión de los temas tratados. Respecto al contenido se busca, como siempre, tratar los aspectos más relevantes y de mayor novedad en el conocimiento de los aspectos tanto básicos, como diagnósticos, pronósticos y terapéuticos de la esclerosis múltiple, que permitan al lector realizar una puesta al día en esta enfermedad.

En este número se revisan los aspectos más importantes relacionados con la influencia ambiental en el desencadenamiento de la enfermedad y el posible efecto de dichos factores en el curso de la misma, abriendo una etapa en la que empieza a visualizarse, no solo la posibilidad de hacer algún tipo de intervención terapéutica –desde el conocimiento de estos factores ambientales– sino incluso preventiva.

Todos los temas son revisados con gran profundidad: virus por Roberto Álvarez-Lafuente, vitamina D por Cristina Croissier Elías, otros factores ambientales por Montserrat Gómez Platas y microbiota por Laura Moles, David Otaegui y Tamara Castillo-Triviño. Como en cada monografía, cada uno de los temas ha contado con dos editores, que aseguran, junto con los autores, que el contenido es de la más rabiosa actualidad y basado en evidencias contrastables.

Para finalizar, los miembros del Consejo Editorial queremos también dejar constancia en este número de nuestro reconocimiento, agradecimiento y aprecio a una persona muy querida en el campo de la esclerosis múltiple a lo largo de décadas, el Sr. Carlos Sanz de Merck, empresa que actualmente patrocina las monografías, deseándole toda clase de venturas en esta nueva fase de su recorrido vital.

Óscar Fernández, en nombre del Consejo Editorial

VIRUS

Autor | **Roberto Álvarez-Lafuente**¹

Editores | **Rafael Arroyo González**², **José María Prieto González**³

¹ Grupo de Investigación de Esclerosis Múltiple. Hospital Clínico San Carlos/Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos (IdISSC). Madrid

² Servicio de Neurología. Hospital QuirónSalud. Hospital Ruber Juan Bravo. Madrid

³ Unidad de Esclerosis Múltiple. Hospital Clínico Universitario de Santiago. Santiago de Compostela

1. Introducción. Mecanismos patogénicos

2. Virus de Epstein-Barr (EBV)

3. Herpesvirus humano 6 (HHV-6)

4. Citomegalovirus (CMV)

5. Retrovirus endógenos humanos

6. Conclusiones

Bibliografía

RESUMEN

La esclerosis múltiple es una enfermedad compleja, de origen desconocido. Clásicamente se ha considerado el resultado de la interacción de uno o varios factores ambientales, que actuarían en las primeras etapas de la vida sobre personas predispuestas desde el punto de vista genético, generando una activación anómala del sistema inmune que a su vez reaccionaría contra componentes del sistema nervioso central (SNC) produciendo inflamación de la mielina y degeneración axonal-neuronal, en un proceso que se mantendría a lo largo del tiempo.

Entre estos factores ambientales pueden citarse la vitamina D y la exposición solar, el hábito tabáquico, infecciones por virus, el consumo de sal y, más recientemente, la microbiota intestinal y el efecto que a través de esta tendría la dieta en el posible desencadenamiento y la evolución de la enfermedad. A lo largo de los años, han sido muchos los virus que se han estudiado en relación con la esclerosis múltiple. Los que más evidencias han acumulado, no solo como posibles agentes desencadenantes, sino también en relación con la posterior evolución de la enfermedad, son dos miembros de la familia Herpesviridae, el virus de Epstein-Barr y el herpesvirus humano 6, y los retrovirus endógenos humanos (HERV), secuencias retrovirales insertadas en nuestro genoma procedentes de infecciones retrovirales exógenas que sucedieron hace millones de años. Recientemente, también se ha desarrollado una controversia creciente en relación con otro herpesvirus, el citomegalovirus, para el que se acumulan los estudios que lo asocian tanto con un mayor como con un menor riesgo de la enfermedad.

La presente revisión tiene como objetivo analizar las evidencias existentes hasta la actualidad que relacionan a los virus anteriormente mencionados con la esclerosis múltiple y plantear cómo estas se ajustan a las teorías existentes hasta el momento acerca de la posible implicación de los virus en la etiopatogenia de esta enfermedad desmielinizante. Más allá de la mayor o menor controversia existente para todos ellos y de que todavía no se ha demostrado ninguna relación causa-efecto para ninguno de estos virus, a lo largo de todos estos años se han realizado un gran número de estudios que han profundizado en los posibles mecanismos de acción a través de los cuales estos virus participarían en la enfermedad, existiendo un innegable cuerpo de evidencias científicas que apoyan, de una u otra manera, su papel en la esclerosis múltiple. Estos estudios nos han ayudado a comprender, además, que al igual que distintos genes estarían implicados en la susceptibilidad genética a padecer esclerosis múltiple, distintos factores ambientales, y en este caso también distintos virus, podrían estar asociados con la etiopatogenia de esta enfermedad.

1. INTRODUCCIÓN. MECANISMOS PATOGENÉTICOS

Desde el punto de vista patogénico, cuando se comenzó a plantear la posible implicación de algún factor ambiental, probablemente infeccioso, en la esclerosis múltiple (EM), se propusieron distintas teorías con el fin de explicar cómo una posible infección/reactivación de uno o varios de esos agentes infecciosos podría contribuir al desarrollo de esta enfermedad. Inicialmente, se plantearon las siguientes hipótesis, no todas ellas excluyentes entre sí:

1. Hipótesis de *hit and run*: por la que la EM sería consecuencia de una reacción autoinmune que habría iniciado una infección monofásica.

2. Hipótesis del mimetismo molecular por infección persistente (**Figura 1**): donde una infección periférica persistente genera una reacción inmune que actuaría contra el sistema nervioso central (SNC). El mimetismo molecular aparece cuando hay reacción cruzada entre epítopos propios del huésped y epítopos virales, posiblemente debido a secuencias homólogas de aminoácidos, lo que llevaría a la activación de células T autorreactivas. Cuando esto ocurre, el sistema inmune puede entonces reconocer los epítopos propios, produciendo una respuesta inmune dirigida contra ellos, incluso en ausencia del virus.

3. Hipótesis de la infección directa: la EM sería el resultado de la infección de las células de glía (por ejemplo, oligodendrocitos) que iniciaría la inflamación focal en el SNC.

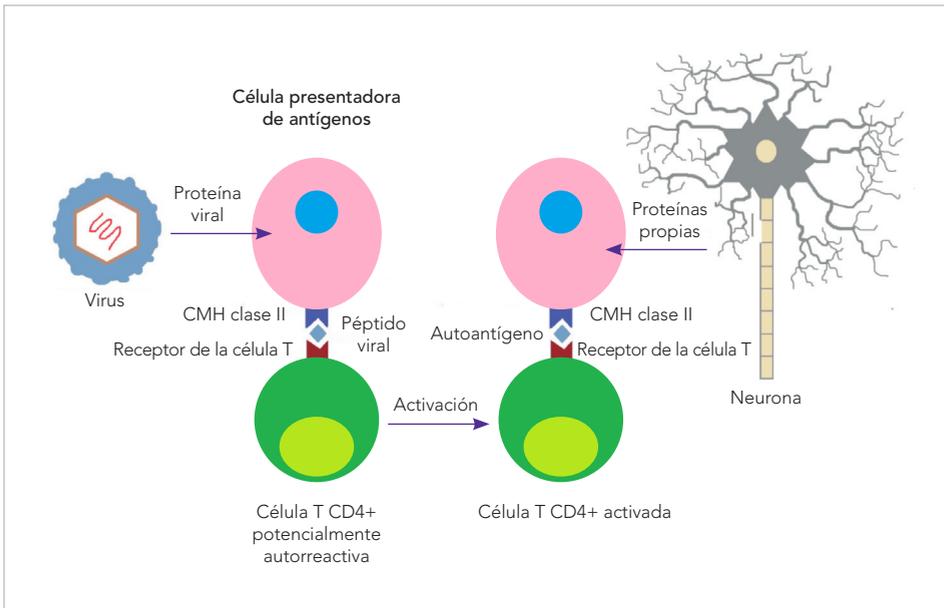


Figura 1. Mimetismo molecular. La reactividad cruzada de antígenos virales y autoantígenos desencadenaría este proceso. Los anticuerpos producidos contra un microorganismo reconocerían como extraños ciertos epítopos de proteínas del hospedador, pudiendo desencadenar una enfermedad autoinmune.

CMH: complejo mayor de histocompatibilidad.

4. Hipótesis de la desregulación inmunológica: donde una infección generaría una alteración del sistema inmunológico que daría lugar a una enfermedad autoinmune órgano-específica.

5. Hipótesis de la doble infección: la EM sería el resultado de la coinfección de al menos 2 patógenos.

Con el paso de los años y un mayor y mejor conocimiento tanto de los mecanismos moleculares implicados en la enfermedad como de los mecanismos asociados a los propios virus, se han ido modificando o descartando algunas de estas hipótesis y proponiéndose otras nuevas. Sin embargo, la teoría del mimetismo molecular (**Figura 1**) ha ido ganando adeptos, a medida que distintos trabajos han demostrado que, al menos potencialmente, distintos epítomos de los virus asociados con la EM podrían presentar reactividad cruzada con distintos epítomos de proteínas de la mielina. Al fin y al cabo, el mimetismo molecular es un proceso evolutivo por el cual un organismo adquiere una semejanza con otro organismo para obtener una ventaja en su supervivencia. En el caso de los virus, ciertos péptidos serían similares a los péptidos del huésped, con el fin de evitar ser reconocidos por el sistema inmune adaptativo.

Pero puesto que ninguna de las teorías o hipótesis planteadas parecía abarcar la totalidad de la patogenia de la EM, se han ido sugiriendo nuevas teorías con el fin de explicar la posible implicación de los virus en la EM. Así, otro mecanismo probable, que no sería excluyente con el mimetismo molecular, sería lo que en inglés se denomina *bystander activation*, que en español podríamos traducir como activación accidental o no intencionada. Lo que se sugiere con este posible mecanismo es que una respuesta inmune adaptativa contra un patógeno específico llevaría a una activación no solo de las células T específicas del patógeno, sino también a una activación no intencionada de células T no específicas del patógeno, que podrían desencadenar un proceso autoinmune. Otros 3 posibles mecanismos además del mimetismo molecular y de la activación no intencionada, que no solo no serían excluyentes con estos dos, sino que podrían suceder al mismo tiempo que los anteriores, o formar parte de ellos, son:

- La propagación de epítomo: en la propagación de epítomos, los péptidos virales activan primero macrófagos que, con o sin activación no intencionada y/o mimetismo molecular, darían lugar a la destrucción de la mielina neuronal, resultando en la liberación adicional de los péptidos del tejido, que a su vez se procesarían y se presentarían en células presentadoras de antígeno, resultando en autoinmunidad.

- Teoría del campo fértil: es otra intrigante hipótesis, según la cual cualquier infección viral en el cuerpo produce un estado inmunológico transitorio de corta vida llamado campo fértil. Una reacción inflamatoria inicial causada por la infección viral crearía un clon de células T autorreactivas a través de cualquiera de los otros mecanismos descritos (por ejemplo, mimetismo molecular), que serían posteriormente activados por otro estímulo antigénico para causar inflamación neuronal. Esto podría variar en función del tipo de virus, la ubicación anatómica y la respuesta inflamatoria inducida por el virus.

- Teoría del *déjà vu* viral: solo se ha descrito en modelos animales. Establece que una infección viral inicial puede producir clones de células T que son reactivados posteriormente por un segundo virus desencadenante, dando lugar a inflamación neuronal. Conceptualmente, las células citotóxicas se dirigirían al epítomo compartido por el virus predisponente y el virus precipitante. Curiosamente, ni el mimetismo molecular ni la activación no intencionada estarían implicados en este modelo conceptual.

Todas estas teorías podrían ocurrir en cualquier sujeto, enfermo o no de EM. Sin embargo, sabemos que los pacientes que padecen esta enfermedad presentan una susceptibilidad genética por la que se favorecerían estos procesos autoinmunes. Pero además, muchos de los polimorfismos genéticos identificados en la susceptibilidad a padecer EM se encuentran en genes relacionados con la respuesta inmune y en concreto con la respuesta inmune antiviral. Esto último podría estar relacionado con la mayor prevalencia/mayor tasa de reactivación/mayor carga proviral descritas de forma repetida en los pacientes de EM para los virus que hemos mencionado, en comparación con controles sanos. Esta mayor reactivación viral contribuiría, por cualquiera de los mecanismos mencionados y en pacientes genéticamente susceptibles, al desencadenamiento de esta enfermedad autoinmune^(1,2).

2. VIRUS DE EPSTEIN-BARR (EBV)

Han sido muchos los virus que a lo largo de los años se han asociado con la EM (**Tabla 1**). Sin embargo, el agente infeccioso sobre el que se han realizado más estudios y para el que, hasta el momento, se han acumulado un mayor número de evidencias, ha sido el EBV. Se han publicado múltiples tipos de estudios tanto de epidemiología descriptiva como analítica, así como estudios experimentales que parecen poner de manifiesto dicha posible asociación.

Una de las observaciones epidemiológicas que más pesan en el papel que jugaría el EBV en la etiopatogenia de la EM es lo extremadamente raro que es encontrar EM en sujetos que sean seronegativos a este virus; como puede observarse en la **Tabla 2**, en los estudios caso-control realizados, la infección por EBV se encuentra prácticamente en

Tabla 1. Algunos virus que se han asociado con la etiopatogenia de la esclerosis múltiple (EM)

Familia	Virus
<i>Herpesviridae</i>	Virus del herpes simple (HSV) Virus de la varicela zóster (VZV) Virus de Epstein-Barr (EBV) Virus herpes humano 6 (HHV-6) Citomegalovirus (CMV) Virus de la enfermedad de Marek (MDV)
<i>Retroviridae</i>	Virus linfotrópico de células T humanas de tipo 1 (HTLV-1) Retrovirus endógenos humanos (HERV-Fc1, HERV-K18, HERV-H, HERV-W)
<i>Paramyxoviridae</i>	Virus del sarampión Virus de las paperas (<i>Mixovirus parotiditis</i>) Virus parainfluenza de tipo 1 Virus del moquillo canino Virus de los simios de tipo 5
<i>Anelloviridae</i>	Torque teno virus
<i>Coronaviridae</i>	Virus corona
<i>Papovaviridae</i>	Virus JC
<i>Bornaviridae</i>	Virus de la enfermedad de Borna

Tabla 2. Detección de anticuerpos IgG frente a EBNA-1 de virus de Epstein-Barr (EBV) en pacientes de esclerosis múltiple (EM) y controles

Año	Autores	Pacientes de EM			Controles		
		Pos.	Neg.	%	Pos.	Neg.	%
1985	Larsen <i>et al.</i>	93	/ 0	100%	78	/ 15	83,9%
1985	Sumaya <i>et al.</i>	102	/ 2	98,1%	23	/ 3	88,5%
1987	Ferrante <i>et al.</i>	25	/ 5	83,3%	28	/ 14	66,7%
1987	Shidoraria <i>et al.</i>	26	/ 0	100%	21	/ 5	80,8%
1997	Munch <i>et al.</i>	137	/ 1	99,3%	124	/ 14	89,9%
1998	Myhr <i>et al.</i>	143	/ 1	99,3%	160	/ 10	94,1%
2000	Wagner <i>et al.</i>	107	/ 0	100%	153	/ 10	93,9%
2000	Wandinger <i>et al.</i>	108	/ 0	100%	147	/ 16	90,2%
2001	Ascherio <i>et al.</i>	141	/ 1	99,3%	269	/ 18	93,7%
2003	Villoslada <i>et al.</i>	44	/ 54	44,9%	24	/ 26	48,0%
2004	Alotaibi <i>et al.</i>	25	/ 5	83,3%	60	/ 83	41,9%
2004	Haahr <i>et al.</i>	53	/ 0	100%	50	/ 3	94,3%
2004	Sundström <i>et al.</i>	233	/ 1	99,6%	693	/ 9	98,7%
2005	Ponsonby <i>et al.</i>	136	/ 0	100%	252	/ 9	96,6%
2006	DeLorenze <i>et al.</i>	42	/ 4	91,3%	79	/ 8	90,8%
2006	Pohl <i>et al.</i>	124	/ 10	92,5%	77	/ 57	57,5%
2007	Banwell <i>et al.*</i>	108	/ 18	85,7%	61	/ 96	63,5%
2007	Riverol <i>et al.</i>	167	/ 5	97,1%	75	/ 10	86,2%
2008	Jilek <i>et al.</i>	25	/ 1	96,2%	29	/ 1	96,7%
2008	Lünemann <i>et al.*</i>	21	/ 2	91,3%	11	/ 6	64,7%
2010	Comabella <i>et al.</i>	25	/ 0	100%	46	/ 0	100%
2010	Ingram <i>et al.</i>	70	/ 5	93,3%	18	/ 7	72,0%
2010	Jafari <i>et al.</i>	108	/ 6	94,7%	51	/ 11	82,3%
2010	Jaquierey <i>et al.</i>	39	/ 1	97,5%	73	/ 10	87,9%
2010	Lindsey <i>et al.</i>	78	/ 2	97,5%	74	/ 6	92,5%
2010	Nociti <i>et al.</i>	261	/ 6	97,8%	128	/ 10	92,8%
2010	Sellner <i>et al.</i>	54	/ 1	98,2%	49	/ 7	87,5%
2010	Selter <i>et al.</i>	16	/ 9	64,0%	25	/ 33	43,1%
2011	Lalive <i>et al.</i>	22	/ 0	100%	16	/ 4	80,0%
2011	Lucas <i>et al.</i>	199	/ 7	96,6%	198	/ 19	91,2%
2011	Mowry <i>et al.</i>	108	/ 11	90,8%	11	/ 9	55,0%
2011	Villegas <i>et al.</i>	66	/ 10	86,8%	62	/ 13	82,7%
2011	Waubant <i>et al.</i>	167	/ 22	88,4%	36	/ 30	54,5%

Tabla 2. Detección de anticuerpos IgG frente a EBNA-1 de virus de Epstein-Barr (EBV) en pacientes de esclerosis múltiple (EM) y controles (*cont.*)

Año	Autores	Pacientes de EM			Controles				
		Pos.	Neg.	%	Pos.	Neg.	%		
2012	Sundquist <i>et al.</i>	580	/	5	99,1%	616	/	48	92,8%
2013	Pandit <i>et al.</i>	138	/	2	98,5%	135	/	5	96,4%
2013	Csuka <i>et al.</i>	130	/	5	96,3%	310	/	35	89,8%
2013	Ramroodi <i>et al.</i>	71	/	7	91,0%	101	/	22	82,1%
2013	Mameli <i>et al.</i>	114	/	11	91,2%	96	/	44	68,6%
2015	Honarmand <i>et al.</i>	43	/	3	93,4%	41	/	5	89,1%
2016	Nejati <i>et al.</i>	82	/	1	98,8%	55	/	7	88,7%
2017	Gieß <i>et al.</i>	96	/	4	96,0%	44	/	16	73,3%

* *En pacientes y controles pediátricos*

todos los pacientes con EM (> 98%), frente al 90% encontrado en los controles. En un estudio longitudinal de seguimiento realizado en una cohorte de adultos seronegativos, se observó que la EM solo ocurría después de la infección por EBV⁽³⁾.

Parece ser que el momento de la infección por EBV jugaría también un papel fundamental, habiéndose observado un aumento del riesgo 2-3 veces superior en aquellos sujetos que se infectan en la adolescencia y en los que se manifiesta como mononucleosis infecciosa frente a los que adquieren la infección en edades tempranas de la vida y no manifiestan síntomas. Así, se ha demostrado un paralelismo, desde el punto de vista epidemiológico, entre la EM y la mononucleosis infecciosa: ambas afectan a adultos jóvenes, presentan un gradiente geográfico de distribución, afectan más a niveles socioeconómicos elevados, menos a pacientes de raza negra y asiáticos, siendo excepcional encontrarla en esquimales, y ambas no afectan a aquellos sujetos que adquieren la infección por EBV en edades tempranas de la vida⁽⁴⁾.

Otro hecho a favor del posible nexo EBV-EM fue una pequeña epidemia de EM en un pueblo danés (Fjelso) donde se demostró que los 8 casos afectos de EM se produjeron directamente tras un brote infeccioso por EBV, demostrándose que todos ellos habían sido infectados por una misma cepa de EBV⁽⁵⁾.

En las personas seropositivas a EBV los títulos de anticuerpos permanecen estables a lo largo de su vida, generando una estimulación continua del sistema inmunológico. Habitualmente se determinan 2 tipos de anticuerpos, uno frente al antígeno de la cápside viral (VCA), un antígeno temprano, el cual es expresado en el ciclo lítico y el otro es el antígeno nuclear (EBNA) expresado en las células infectadas de forma latente. EBNA es un complejo constituido por 6 proteínas distintas, una de las cuales (EBNA-1) es la primariamente reconocida en el complejo anti-EBNA. Habitualmente, en estudios clínicos y de investigación se utilizan anticuerpos dirigidos contra EBNA-1 y 2.

En aquellos pacientes que desarrollan mononucleosis infecciosa, al inicio se observan títulos elevados de IgM contra VCA, con posterior elevación de títulos de IgG contra VCA

que permanecerán de forma estable indefinidamente. La reactividad frente a EBNA-1 y 2 aparece en distintos momentos. La IgG frente a EBNA-2 aparece en la fase aguda de la enfermedad y decrece durante la convalecencia, mientras que la IgG frente a EBNA-1 se empieza a detectar únicamente durante la convalecencia y permanecerá estable a lo largo de la vida. La IgG contra EBNA-1 y la IgG contra EBNA-2 tienen comportamientos contrarios durante la inmunosupresión; así, la IgG contra EBNA-2 se eleva mientras decrecen los títulos de IgG contra EBNA-1, generando una inversión de la ratio de anticuerpos anti-EBNA-1/anti-EBNA-2 que en sujetos sanos es mayor de 1. Los títulos de anticuerpos frente a EBNA-1 son proporcionales al grado de infección del EBV por linfocitos citotóxicos y sería un fuerte marcador de la inmunidad celular del EBV.

En otras enfermedades causadas por EBV, como en el linfoma de Burkitt, el carcinoma nasofaríngeo y en el linfoma de Hodgkin relacionado con EBV, los títulos frente a EBV permanecen elevados varios años antes de desarrollar la enfermedad. En el linfoma de Burkitt existe una elevación de los anti-VCA pero no de los anti-EBNA y la elevación de ambos se ha demostrado en carcinoma nasofaríngeo y en linfoma de Hodgkin. Como prueba de la posible implicación del EBV en la EM, se ha encontrado mayor tasa de linfoma de Hodgkin vinculado al EBV en pacientes con EM y en familiares directos de pacientes con EM que en la población general⁽⁶⁾.

En la EM, se ha observado un incremento de los anticuerpos anti-EBV hasta 5 años antes del inicio de los síntomas. En concreto, se ha demostrado un incremento de los anticuerpos anti-EBNA y, entre estos, del anti-EBNA-1, lo que sugiere una más severa primoinfección o una reactivación de la infección acompañada por una vigorosa respuesta inmune celular. Se ha demostrado además la presencia de linfocitos T anti-EBNA-1 mucho más frecuentemente en pacientes con EM que en sujetos sanos⁽⁷⁾.

Otro hallazgo muy significativo es el cambio en la tasa de anticuerpos en relación con la edad. Cuando se miden los anticuerpos frente a EBV en personas antes de los 20 años, la media de anticuerpos es similar entre aquellos que más tarde desarrollarán EM y los que se mantendrán sanos. Mientras los títulos de IgG anti-EBNA permanecen estables a lo largo de la vida en los controles sanos, en los pacientes con EM se observa un incremento significativo entre los 20 y los 30 años, que posteriormente se estabiliza. Esta diferencia entre individuos que desarrollarán EM e individuos sanos es importante. Un aumento de hasta 4 veces de los títulos de IgG anti-EBNA, comparando una muestra realizada antes de los 20 años con otra muestra posterior, eleva el riesgo de desarrollar EM hasta 15 veces más.

Además, se ha visto una elevación de los títulos cuando comienzan los síntomas de la enfermedad. No se conocen las razones de este incremento de los anticuerpos edad-dependiente y se postula la posibilidad de una coinfección por otro germen que altere la respuesta inmune frente al EBV o la coinfección por otra cepa de EBV diferente a la de la primoinfección. Por último, se piensa que esta elevación de anticuerpos pudiera ser un marcador de reacción autoinmune que en algunos individuos desencadenaría la enfermedad.

También se ha visto que los títulos de IgG frente a EBNA-1 estarían selectivamente incrementados en pacientes con un síndrome clínico aislado (SCA), en comparación con controles sanos; además, se ha demostrado una relación entre los títulos de IgG anti-EBNA-1 con la carga lesional, con la diseminación espacial en resonancia magnética nuclear (RMN) cerebral, con la diseminación temporal radiológica, así como con la

progresión en la escala de discapacidad EDSS (Expanded Disability Status Scale), sugiriendo que los títulos de IgG EBNA-1 puedan ser utilizados como marcador pronóstico para la conversión a EM y como marcador pronóstico evolutivo de discapacidad. En otro estudio se observó además la existencia de replicación activa periférica de EBV durante los brotes de EM, en comparación con pacientes con enfermedad estable.

Quizá el mayor obstáculo para aceptar el posible papel que el EBV jugaría en la etiopatogenia de la EM es la ausencia del virus en las lesiones patológicas de sujetos con la enfermedad. Algunos estudios realizados por PCR a tiempo real en cerebros de pacientes con EM y en linfocitos B del líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes descartaron la existencia de infección activa por EBV. Sin embargo, un estudio realizado recientemente en más de 1.000 muestras procedentes de 101 cerebros con EM y 21 cerebros controles, en los que se analizó la presencia de EBV por PCR e hibridación *in situ* (EBER-ISH, por sus siglas en inglés), detectó la presencia de EBV por cualquiera de las 2 técnicas en el 90% de los cerebros de pacientes con EM frente a solo el 24% de los cerebros no-EM que padecían otras patologías neurológicas. Aunque la carga viral fue moderada en la mayoría de los casos, en 18 de los cerebros con EM encontraron una dispersión de células infectadas por EBV; el análisis inmunohistoquímico detectó la expresión de la proteína de latencia EBNA-1, pero también la de BLZF1, una proteína lítica temprana. Esta ha sido la primera demostración de que el EBV estaría presente y transcripcionalmente activo en el cerebro de pacientes con EM⁽⁸⁾.

Sin embargo, los defensores de la importancia del EBV esgrimen la existencia de múltiples mecanismos por los que la infección por EBV puede incrementar el riesgo de EM sin necesidad de infectar directamente el SNC. La teoría más aceptada es la del mimetismo molecular. La infección por EBV, en pacientes predispuestos genéticamente, reaccionaría contra antígenos de la mielina, en un proceso que implicaría a linfocitos T y anticuerpos. A favor estarían: el hallazgo en los pacientes con EM de un mayor número de linfocitos T CD4+ específicos que reconocerían EBNA-1 y la identificación de 2 péptidos de EBV que presentarían reactividad cruzada con péptidos de la mielina, para uno de los cuales EBNA-1 ha demostrado ser marcador de respuesta inmune en el LCR de pacientes con EM.

Además, en otro estudio, se han identificado múltiples y significativas asociaciones entre los niveles de IgG anti-EBNA-1 con distintos factores genéticos localizados en la región HLA. Esta región genómica no solo contiene genes relacionados con la función inmune en humanos, sino que además ahí se encuentran algunos de los principales factores genéticos de susceptibilidad a EM. Estas asociaciones no fueron encontradas en relación con la seroreactividad de otros 12 patógenos analizados en este estudio, con lo cual los autores concluyen que dicha asociación parece ser específica de EBNA-1. También se ha descrito que la mayor expresión de interferón alfa localizada en áreas activas de las lesiones de EM y que se asocia con el proceso inflamatorio agudo estaría relacionada con la detección de ARN codificado por EBV (EBER); estos hallazgos sugerirían que la infección latente por EBV podría contribuir al estado inflamatorio en las lesiones activas de EM a través de la activación de la respuesta inmune innata, aumentando, por ejemplo, la producción de interferón alfa⁽⁹⁾.

En relación con el comportamiento del EBV con los tratamientos existentes para la EM, se ha descrito que una terapia clínicamente efectiva con interferón beta se asocia con una disminución de la respuesta proliferativa de las células T frente a EBNA-1; en cambio,

la respuesta IgG específica de EBNA-1, así como la respuesta inmune humoral de clase I restringida a antígenos de EBV expresada durante la replicación lítica y la transformación viral de células B, fueron similares antes y después del tratamiento con interferón beta.

También se ha descrito una asociación entre los niveles elevados de IgG frente a EBNA-1 y bajos niveles de vitamina D, otro posible factor ambiental relacionado con la etiopatogenia de la EM, al comienzo de la enfermedad. Esta asociación ha sido replicada en otros estudios. El interés por la posible interacción entre estos 2 factores ambientales llevó a la realización de un ensayo clínico en el que se reclutaron 40 pacientes con EM, de los que 27 fueron tratados con 50.000 UI/semana de vitamina D durante 6 meses y 13 se utilizaron como grupo control. Tras el análisis de los títulos de anticuerpos frente a EBNA-1 y VCA de EBV, a lo largo del estudio, los autores describen que la suplementación con vitamina D podría ser útil para reducir el aumento observado en los títulos de anticuerpos frente a EBV al comienzo de la enfermedad⁽¹⁰⁾.

Otras teorías propuestas para la posible implicación del EBV en la EM incluyen la activación de superantígenos, una clase de antígenos que pueden activar poblaciones de linfocitos T inespecíficos, un incremento de la expresión de alfa-beta-cristalina, que es una proteína de estrés que ha demostrado ser marcador de la inmunidad de linfocitos T CD4+ en EM, o la infección y activación crónica de linfocitos B autorreactivos.

Debido a la heterogeneidad encontrada en la patología de la EM, no se descarta que, además de los ya descritos, puedan estar implicados otros mecanismos. La observación de que la EM ocurre años después de la mononucleosis infecciosa hace pensar que el EBV podría actuar como un factor iniciador del proceso patológico, pero que otros eventos serían necesarios para comenzar las manifestaciones clínicas de la enfermedad. Por todo ello, a pesar de los múltiples estudios realizados en los últimos años, sigue sin poder concretarse si la infección por EBV es causa o es realmente un epifenómeno necesario para el inicio de la enfermedad. Su asociación con otras enfermedades autoinmunes, además de la EM, sugiere que podría ser un iniciador no específico de la cascada autoinmune.

3. HERPESVIRUS HUMANO 6 (HHV-6)

El HHV-6 es un beta-herpesvirus que fue descubierto en 1986 a partir de pacientes inmunocomprometidos por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y con desórdenes linfoproliferativos. HHV-6 es un virus ubicuo, con una seroprevalencia estimada superior al 95% en la población general. Inicialmente se describieron 2 subtipos de este virus, el HHV-6A y el HHV-6B; este último es adquirido en los primeros años de vida (la infección habitualmente sucede antes de los 2-3 años de edad). Esta infección primaria puede ser asintomática o manifestarse a través del exantema súbito, también conocido como *roseola infantum*. Después, el virus se vuelve latente, encontrándose generalmente en células mononucleares de sangre periférica.

Sin embargo, se sabe menos acerca de la adquisición y la seroprevalencia del HHV-6A, en parte debido a la falta de ensayos serológicos adecuados para su detección, si bien se ha visto que esta variante es más neurotrópica, dado que se detecta más comúnmente en el LCR que en células sanguíneas. Después de profundizarse, en los últimos años, en las diferencias existentes a todos los niveles (genético, molecular,

patológico, epidemiológico, etc.) entre HHV-6A y HHV-6B, se llegó a la conclusión de que realmente ambos podían ser considerados como 2 virus independientes, en lugar de como 2 variantes de un mismo virus⁽¹¹⁾.

Se sabe que el HHV-6 infecta una gran variedad de células, tanto *in vivo* como *in vitro*, incluyendo tejido cerebral *in vivo* y células gliales *in vitro*. El HHV-6 se reactiva en estados inmunocomprometidos, como por ejemplo tras un trasplante de médula ósea, y puede dar lugar a una infección oportunista, que en algunas ocasiones puede ocasionar encefalitis. El HHV-6 también ha sido implicado en una gran variedad de desórdenes neurológicos, incluyendo epilepsia del lóbulo temporal, encefalitis en pacientes inmunocompetentes, síndrome de fatiga crónica y EM.

El HHV-6 fue implicado por primera vez en la EM al comienzo de los años noventa. En 1993 se describió que los títulos de anticuerpos frente a HHV-6, medidos por inmunofluorescencia, estaban significativamente elevados en el suero de los pacientes con EM en comparación con los controles. Los autores pensaron que los títulos más elevados vistos entre los pacientes con EM estarían probablemente más relacionados con un deterioro del sistema inmune que con la reactivación del virus. Poco después, en otro estudio, en el que se utilizó una novedosa técnica denominada análisis de representación diferencial (RDA) en muestras de tejido cerebral de pacientes con EM y controles, se proporcionó una de las primeras evidencias directas de la implicación del HHV-6 en la patogenia de la EM. Además de la técnica mencionada, se realizó también un análisis inmunocitoquímico dirigido contra proteínas del HHV-6. Con ambas técnicas se observó la expresión de proteínas en el cerebro de los pacientes con EM, pero no en controles. Además, la expresión se localizó precisamente en los oligodendrocitos, sugiriendo así una posible asociación entre la EM y el HHV-6⁽¹²⁾.

Tras este trabajo, se han publicado multitud de estudios tratando de abordar la posible implicación del HHV-6 en la etiopatogenia de la EM. Las aproximaciones realizadas han sido muy variadas e incluyen:

- **Estudio de la presencia del HHV-6 en muestras de tejido cerebral de pacientes con EM.** A través de una técnica de PCR *in situ* en 2 pasos, altamente sensible, se ha analizado la presencia de ADN de HHV-6 en muestras de tejido cerebral embebidas en parafina que se habían recogido en pacientes con EM; se encontró una alta expresión de 2 genes de HHV-6, *p41* y *p101*, en la materia blanca de los pacientes con EM, particularmente en oligodendrocitos y neuronas. En otro estudio se examinó, por PCR, la frecuencia de ADN de HHV-6 en placas de desmielinización de pacientes con EM, frente a la frecuencia de ADN de HHV-6 en materia blanca aparentemente normal de pacientes y controles, encontrándose que la prevalencia de ADN de HHV-6 estaba significativamente elevada en las placas de EM. También se ha descrito, al analizar la presencia de ADN de HHV-6 por PCR *in situ* en lesiones de EM, que en todas las muestras numerosos oligodendrocitos, linfocitos y células de microglía eran positivos para ADN de HHV-6. Puesto que ninguno de los pacientes de los que procedían las muestras de biopsias había sido previamente tratado, se descartó una posible reactivación debido a las terapias inmunosupresoras/inmunomoduladoras asociadas con la EM.

La aplicación de la técnica de hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH) permite estudiar la expresión de genes virales tardíos y tempranos tanto en lesiones como en

sustancia blanca de apariencia normal procedentes de tejidos cerebrales de pacientes con EM, así como de tejidos cerebrales normales. Así, se ha visto que tanto el tejido lesionado como el de apariencia normal en los pacientes con EM tenían niveles significativamente elevados de expresión de HHV-6 en comparación con el tejido normal. Sin embargo, mientras que el tejido lesionado expresaba los niveles más elevados, el tejido de apariencia normal de los pacientes con EM mostraba unos niveles intermedios de HHV-6. Además, se encontró una traducción activa de ARN mensajero de HHV-6 en oligodendrocitos de tejido cerebral de pacientes con EM. Por el contrario, otros estudios han mostrado una falta de transcritos virales en tejidos cerebrales para otros virus de la familia *Herpesviridae* tales como EBV, HHV-7 y HHV-8. Esto no solo reforzaría los hallazgos obtenidos para HHV-6, sino que podría llegar a sugerir una implicación directa de este virus en la EM.

• **Estudio de la presencia de HHV-6 fuera del SNC.** En multitud de ocasiones se ha investigado la presencia de ADN de HHV-6 en saliva, orina, suero (Tabla 3) y células mononucleares de sangre periférica en pacientes con EM, en comparación con distintos

Tabla 3. Detección de herpesvirus humano 6 (HHV-6) por PCR en suero de pacientes con esclerosis múltiple (EM) y controles

Año	Autores	Pacientes de EM			Controles		
		Pos.	Casos	%	Pos.	Casos	%
1994	Wilborn <i>et al.</i>	0	/ 21	0,0%	0	/ 16	0,0%
1997	Martin <i>et al.</i>	0	/ 20	0,0%	0	/ 20	0,0%
1997	Soldan <i>et al.</i>	15	/ 50	30,0%	0	/ 47	0,0%
1998	Fillet <i>et al.</i>	2	/ 32	6,3%	1	/ 34	2,9%
1999	Goldberg <i>et al.</i>	1	/ 24	4,2%	0	/ 30	0,0%
1999	Mirandola <i>et al.</i>	0	/ 32	0,0%	0	/ 12	0,0%
2000	Akhyani <i>et al.</i>	8	/ 34	23,5%	0	/ 19	0,0%
2001	Tomsone <i>et al.</i>	14	/ 38	36,8%	0	/ 43	0,0%
2002	Tejada-Simón <i>et al.</i>	22	/ 33	66,7%	7	/ 21	33,3%
2003	Al-Shammari <i>et al.</i>	0	/ 24	0,0%	1	/ 33	3,0%
2004	Álvarez-Lafuente <i>et al.</i>	17	/ 105	16,2%	0	/ 49	0,0%
2005	Fögdell-Hahn <i>et al.</i>	4	/ 42	9,5%	0	/ 123	0,0%
2006	Álvarez-Lafuente <i>et al.</i>	16	/ 63	25,4%	0	/ 63	0,0%
2007	Martínez <i>et al.</i>	22	/ 99	22,2%	–	/ –	–
2008	Kuusisto <i>et al.</i>	0	/ 34	0,0%	–	/ –	–
2009	Ahram M, <i>et al.</i>	8	/ 30	26,7%	8	/ 33	24,2%
2009	Franciota D <i>et al.</i>	0	/ 54	0,0%	0	/ 25	0,0%
2011	Nora-Krukke <i>et al.</i>	8	/ 17	32,0%	–	/ –	–
2011	García-Montojo <i>et al.</i>	18	/ 35	33,9%	–	/ –	–
2013	Ben Fredj <i>et al.</i>	4	/ 56	6,7%	2	/ 61	3,2%

grupos de controles. En un estudio en el que se analizó la presencia de ADN de HHV-6 en todos estos fluidos, se encontró presencia de este virus en saliva y sangre de pacientes y controles sanos, pero únicamente fue encontrado en el suero y la orina del 23% de los pacientes con EM y no en controles. El análisis de los subtipos presentes en los productos de PCR reveló un predominio de la variante A en las muestras de los pacientes con EM. De forma similar, en otro estudio se encontró presencia de ADN de HHV-6 en el 14,6% de las muestras de suero de pacientes con EM y en ninguno de los controles sanos; mientras que el HHV-6B fue comúnmente encontrado en sangre tanto de controles como de pacientes con EM (30 y 53%, respectivamente), el HHV-6A fue hallado de forma significativa en sangre de pacientes con EM (20%) frente a controles (4%).

El HHV-6 es un virus que típicamente está asociado a las células y para el que la excreción de partículas virales solo ocurre durante la fase de replicación viral activa. Así, el hecho de que el ADN de HHV-6 sea encontrado en compartimentos extracelulares, tales como el suero y la orina, en pacientes con EM en los 2 estudios anteriormente mencionados, es indicativo de que la replicación viral activa del HHV-6 ocurre de forma común en los pacientes con EM.

Se han diseñado también estudios longitudinales para analizar variaciones en la presencia de ADN de HHV-6. En un estudio con 59 pacientes de EM, seguidos durante 5 meses, en los que se recogieron múltiples muestras de suero a lo largo de varios puntos del estudio, se analizó la presencia de ADN de HHV-6 por PCR. Aunque el ADN de HHV-6 fue detectado en los pacientes durante los brotes y en los estados de remisión, la prevalencia fue significativamente más elevada en las muestras tomadas durante los brotes clínicos, sugiriendo una posible asociación entre la replicación activa del HHV-6 y los brotes en los pacientes con EM⁽¹³⁾.

- **Estudios de la presencia del HHV-6 en muestras de LCR.** Numerosos estudios han investigado también la presencia de ADN de HHV-6 en muestras de LCR de pacientes con EM en comparación con controles con otras patologías neurológicas. Los resultados varían mucho, si bien múltiples estudios han mostrado un incremento en la detección de ADN de HHV-6 en pacientes con EM en comparación con dichos grupos control⁽¹³⁾.

- **Estudios serológicos.** Al analizar la presencia de anticuerpos frente a HHV-6, se ha encontrado una mayor respuesta IgM frente a antígenos tempranos del HHV-6 (p41/p38) en pacientes con EM recurrente remitente que en pacientes con EM crónica progresiva, otras enfermedades neurológicas, otras enfermedades autoinmunes y en controles sanos, indicando que una exposición reciente a HHV-6, o su reactivación, podría estar asociada con la enfermedad.

En estudios posteriores se han confirmado estos resultados, encontrándose más elevados no solo los títulos de anticuerpos IgM, sino también los títulos de anticuerpos IgG frente a HHV-6. También se ha descrito que están más elevados en pacientes con EM temprana (particularmente EM recurrente remitente temprana y SCA) en comparación con pacientes con EM secundaria progresiva y controles sanos, indicando un papel potencial para el HHV-6 como posible iniciador de la enfermedad⁽¹⁴⁾.

- **Estudios sobre el efecto del tratamiento en la carga viral y los títulos de anticuerpos de HHV-6.** Otra evidencia que relaciona al HHV-6 con la EM es el efecto que se ha descrito

del interferón beta (la primera terapia que se utilizó para el tratamiento de la EM, basándose, entre otras, en sus propiedades inmunomoduladoras y antivirales) sobre el HHV-6. Se han estudiado los niveles de anticuerpos IgG e IgM frente a HHV-6 y el ADN de HHV-6 en muestras de suero de pacientes con EM tratados con interferón beta, en pacientes no tratados y en controles sanos. Los hallazgos sugieren que el tratamiento con interferón beta disminuye significativamente la replicación del HHV-6, encontrándose una disminución del ADN de HHV-6 en suero en el grupo de pacientes tratados con interferón beta.

Otros estudios han confirmado estos resultados, observándose una disminución de la prevalencia de ADN del HHV-6 en el suero de los pacientes con EM después del tratamiento con interferón beta y describiéndose un peor pronóstico, con brotes más frecuentes y severos, en aquellos pacientes en los que a pesar del tratamiento se detectaba de forma continua la presencia de ADN de HHV-6⁽¹⁵⁾. Resultados similares se han obtenido al analizar la evolución de los títulos de anticuerpos IgG e IgM frente a HHV-6 en pacientes tratados con interferón beta y natalizumab⁽¹⁶⁾.

- **Estudios de respuesta linfoproliferativa.** Se ha descrito que la respuesta linfoproliferativa frente a HHV-6A estaba incrementada en los pacientes con EM en comparación con los controles. Las respuestas linfoproliferativas frente a lisados celulares infectados por HHV-6A, HHV-6B y HHV-7 fueron comparadas en pacientes con EM y controles. Mientras que ambos grupos mostraron linfoproliferación en respuesta a los lisados de HHV-6B, el grupo de pacientes de EM mostró un incremento significativo en la respuesta a lisados de HHV-6A en comparación con los controles: 67% en los pacientes con EM frente al 33% en los controles⁽¹⁷⁾.

- **Estudios de mimetismo molecular.** Se ha sugerido que el mimetismo molecular podría ser un posible mecanismo a través del cual el HHV-6 podría estar relacionado con la EM. Así, se ha visto que el gen *U24* del HHV-6 comparte homología de secuencia (residuos 4-10) con la proteína básica de la mielina (residuos 96-102). Se ha descrito que un porcentaje significativo de células T que reconocían MBP93-105 presentaban reacción cruzada con un péptido sintético correspondiente a HHV-6 *U244-10* en pacientes con EM. También se encontró que las células T con especificidad para ambos péptidos estaban significativamente incrementadas en los pacientes con EM en comparación con los controles.

Recientemente, al comparar las IgG totales presentes en el LCR de pacientes con EM y controles con otras enfermedades neurológicas, se identificó un fragmento de una proteína del HHV-6 para la que existían anticuerpos en el LCR de los pacientes con EM, pero no en el de los controles. La secuenciación por espectrometría de masas de dicho fragmento identificó que pertenecía a la proteína principal de la cápside (MCP) del HHV-6A. Posteriores análisis *in silico* determinaron que epítomos del fragmento unido por los anticuerpos IgG presentes en el LCR de los pacientes con EM podían presentar reactividad cruzada con otros epítomos de proteínas presentes en el SNC⁽¹⁸⁾. Estos hallazgos sugerirían que el HHV-6, por medio del mecanismo denominado mimetismo molecular, podría ser uno de los posibles iniciadores del proceso autoinmune en la EM.

- **Estudios que relacionan la posible asociación de la infección por HHV-6 y la evolución clínica de los pacientes con EM.** Se ha descrito que los pacientes con EM que

estaban sufriendo una infección activa por HHV-6 eran significativamente más jóvenes y tenían una duración más corta de la enfermedad que los pacientes con EM que eran negativos a la presencia de HHV-6. También se ha encontrado, de forma repetida, que la infección activa por HHV-6 (medida a través de la presencia de ADN de este virus en muestras de suero) es más frecuente entre los pacientes con EM que estaban en brote y en aquellos pacientes que presentan lesiones que realzan gadolinio por RMN⁽¹³⁾.

• **Estudios de interacción entre HHV-6 y ciertos genes de susceptibilidad en pacientes con EM.** Se ha encontrado una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,0001$) entre los pacientes de EM con infección activa por HHV-6 y que eran portadores del alelo minoritario C (rs4,774G/C) del gen *MHCI1TA*, que codifica para un factor de transcripción utilizado como diana en las estrategias inmunoevasivas de algunos herpesvirus, y los pacientes portadores de este mismo alelo que nunca habían sufrido una infección activa por el virus. Este estudio ha sido posteriormente replicado⁽¹⁹⁾.

Sin embargo, a pesar de todos estos estudios y de que la infección por HHV-6, o su reactivación, parece ser un fenómeno más frecuente entre los pacientes con EM que en la población control (**Tabla 3**), no se ha establecido todavía ninguna correlación definitiva entre la infección por HHV-6 y la etiopatogenia de la EM, y serán necesarios nuevos estudios para concretar si los datos observados hasta el momento implican la participación activa de este virus en la enfermedad o se trata de un simple epifenómeno.

Recientemente, se ha publicado un metaanálisis con el fin de aclarar la posible relación entre la infección por HHV-6 y la EM. Se incluyeron un total de 39 estudios en el metaanálisis, de los cuales 34 utilizaron distintas técnicas de biología molecular y 7 realizaron ensayos serológicos para el diagnóstico por HHV-6. La relación del HHV-6 con la EM fue significativamente estadística, con una *odds ratio* de 6,7 y una $p < 0,00001$, al comparar la prevalencia del HHV-6 entre pacientes y controles sanos; en los estudios serológicos, al comparar la presencia de anticuerpos IgM frente a HHV-6 en suero de pacientes con EM y con otras enfermedades neurológicas, se encontró una *odds ratio* de 8,3 y una $p < 0,00001$. Los autores concluyen, por tanto, que parece existir una asociación significativa entre la EM y la infección por HHV-6⁽²⁰⁾.

4. CITOMEGALOVIRUS (CMV)

El CMV es otro beta-herpesvirus capaz de establecer latencia y que presenta unas elevadas tasas de prevalencia entre la población general (entre el 60 y el 100%, dependiendo de la edad y de factores socioeconómicos). Una de las características importantes a resaltar sobre el CMV es que tiene la capacidad de transmitirse al feto durante el embarazo, pudiendo provocar problemas neurológicos en los recién nacidos. También, entre otros descubrimientos, se ha visto que esta infección puede acelerar la inmunosenescencia, es decir, el envejecimiento del sistema inmune. Se ha demostrado que, con la edad, aumenta la carga viral del CMV en los monocitos de sangre periférica, pasando a encontrarse prácticamente en el 100% de los individuos mayores de 70 años. Con los años, también aumentaría el número de anticuerpos contra el virus y la respuesta inmune celular.

A lo largo del tiempo y desde su estado de latencia, el CMV se podría ir reactivando periódicamente. Además, se ha visto que el CMV compromete una gran parte de su genoma en

evadir el reconocimiento y la activación del sistema inmune del huésped; por ejemplo, mediante la reducción de la presentación de antígenos al interferir con la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad o mediante la disminución de las moléculas coestimuladoras y la evasión del control de células *natural killer* (NK). Por tanto, el establecimiento de latencia por parte del CMV puede tener un impacto en la salud del hospedador: por una parte, podría contribuir a la patogenia de distintos desórdenes inflamatorios crónicos y, por otra, podría conferir inmunidad innata heteróloga frente a otros patógenos.

Si el CMV puede ejercer alguna influencia sobre la EM y cuáles serían los posibles mecanismos implicados en su patogenia son temas que han generado cierta controversia en los últimos años. Así, la seropositividad al CMV se ha correlacionado con un curso peor de la enfermedad, aunque también con todo lo contrario. Tras un primer estudio publicado en 2014 en Suecia, con una cohorte de 658 pacientes con EM y 786 controles sanos, se concluyó que la presencia de anticuerpos específicos frente a CMV se asociaba con un menor riesgo de padecer EM⁽²¹⁾. Posteriormente, otros trabajos obtuvieron datos similares que parecían relacionar la presencia de estos anticuerpos frente a CMV con un mejor pronóstico clínico, una mayor edad de inicio de la enfermedad y una disminución de la atrofia cerebral. En contraste con estos trabajos iniciales, se ha descrito también que la presencia de anticuerpos frente a CMV, en pacientes con EM, se asocia a un menor tiempo entre brotes, un aumento en el número de los brotes y una mayor atrofia cerebral. Un reciente metaanálisis sobre 1.341 pacientes con EM y 2.042 controles sanos no arrojó un resultado concluyente sobre la relación entre la infección por CMV y la aparición de EM⁽²²⁾.

Se sabe que la infección por CMV promueve, en los individuos sanos, una redistribución adaptativa de las células NK. Esta redistribución se caracteriza por una expansión persistente de un subconjunto de células NK maduras que muestran en su superficie niveles elevados del receptor CD94/NKG2C, junto con características fenotípicas y funcionales adicionales que pueden tener implicaciones más amplias en la inmunidad del hospedador. Esta expansión de células NKG2C+ impulsada por la infección por CMV puede ser variable. Con el objetivo de abordar si los cambios inducidos por la infección por CMV en relación con las células NK podrían estar relacionados con el curso clínico de la EM, se publicó un trabajo en el que se estudió el inmunofenotipo y el genotipo de las células NKG2C+ como posibles factores pronósticos en la progresión de la discapacidad. Los autores encontraron que la expansión de células NKG2C+ en pacientes CMV+ confirió un menor riesgo de progresión en el análisis de regresión de Cox, en comparación con pacientes con una proporción menor de células NKG2C+, por lo que los autores concluyen que la infección por CMV podría ejercer una influencia beneficiosa sobre la EM, disminuyendo el riesgo de progresión de la discapacidad en aquellos pacientes que presentan una expansión de células NKG2C+ impulsada por este virus⁽²³⁾.

Sin embargo, debido a la naturaleza persistente de la infección por CMV y dependiendo del grado de infección, también puede producirse una importante acumulación de células T de memoria específicas de CMV (que en promedio pueden llegar a representar el 10% del compartimento total de las células T de memoria). Como consecuencia de este gran porcentaje de células T de memoria específicas de CMV, la vigilancia inmunitaria podría volverse menos efectiva con el tiempo, llegando a comprometerse la inmunidad normal.

Recientemente, se ha publicado un estudio en el que, utilizando una combinación de datos humanos y modelos animales, se ha investigado si el CMV en sí mismo es capaz de

desencadenar la expansión de células T CD4+CD28^{null} y agravar el curso de la EM. Los autores encuentran que la estimulación *in vitro* de células mononucleares de sangre periférica con la proteína pp65 de CMV resultó en una expansión de células T CD4+CD28^{null}. Además, en ratones con encefalomiелitis alérgica experimental (EAE), un modelo murino de EM, el porcentaje de células T CD4+CD28^{null} se correlaciona con la severidad de la enfermedad; los síntomas se agravaron con una preexposición de los ratones con EAE al CMV murino, observándose unos niveles más elevados de desmielinización en la médula espinal. Se identificaron células T CD4+ citotóxicas en regiones desmielinizadas de la médula espinal, sugiriendo que las células T CD4+CD28^{null} expandidas periféricamente migrarían hacia el SNC, causando el daño observado. Tomados en conjunto todos estos datos, los autores sugieren que el CMV llevaría a una expansión de células T CD4+CD28^{null}, aumentando la activación de las células T CD4+ específicas de la enfermedad y agravando la inflamación mediada por autoinmunidad y, por tanto, la desmielinización⁽²²⁾.

5. RETROVIRUS ENDÓGENOS HUMANOS

La reciente publicación del genoma humano ha revelado que hasta un 8% del mismo está compuesto por HERV. Evolutivamente, se considera que entraron en nuestro genoma hace millones de años a través de la infección de la línea germinal por antiguos retrovirus exógenos. Representan, por tanto, las huellas de infecciones retrovirales previas que, a lo largo del tiempo, se han transmitido verticalmente a través de la línea germinal y así han sido heredados por las sucesivas generaciones de forma mendeliana, participando en procesos de especiación, recombinación, ontogénesis y regulación de la especificidad de tejidos y expresión génica. Con el tiempo, los HERV han sido sometidos a ampliificaciones repetidas y eventos de transposición, dando lugar a copias sencillas y múltiples de provirus que están distribuidos en el ADN de todas las células.

Sin embargo, aunque la gran mayoría de estas copias son actualmente defectivas como consecuencia de distintos procesos de selección negativa y mutaciones específicas (deleciones, aparición de codones de terminación, cambios en el marco de lectura, etc.), algunas secuencias conservan su capacidad de retrotranscripción y otras incluso sintetizan para proteínas que han sido “adoptadas” fisiológicamente por nuestro propio organismo.

El estudio de los HERV, en relación con la EM, comenzó en 1989 cuando Perron *et al.* descubrieron partículas retrovirales en cultivos de células leptomeníngeas en pacientes con EM; estas partículas retrovirales fueron denominadas originalmente MSR_V (*multiple sclerosis associated retrovirus*), aunque actualmente se integran en la familia HERV-W. Tras ese primer descubrimiento, se han realizado numerosos estudios en los que se ha visto que los pacientes que no presentaban HERV-W en el LCR tenían un curso de la enfermedad estable, mientras que aquellos positivos a este virus en el LCR tenían un curso más severo y requerían tratamiento.

También se ha descrito que el HERV-W es capaz de provocar una neuropatología mediada por células T *in vivo*. Así, se ha demostrado que la sincitina-1, una proteína codificada por HERV-W (localizada en el *locus* ERVW-1) con una funcionalidad fisiológica en nuestro organismo, ya que participa en la formación del sincitiotrofoblasto durante el embarazo, presenta niveles de expresión significativamente más altos en los cerebros de pacientes de EM que en los controles y además tiene efectos neuropatogénicos, pudiendo

inducir muerte de oligodendrocitos; resultados similares han sido encontrados recientemente por otros autores.

MSRV, otro miembro de la familia HERV-W, codifica para una proteína de su envuelta, denominada env, similar en su secuencia a sincitina-1. Esta proteína activa una cascada autoinmune y proinflamatoria a través de la interacción con el *Toll-like receptor 4* de las células inmunes. Recientemente, se ha descrito que el antígeno env se ha detectado en el suero del 73% de los pacientes con EM, mientras que no se ha detectado en otros pacientes con infecciones crónicas, lupus, otras enfermedades neurológicas y controles sanos.

La expresión de HERV-W, medida a través de la cuantificación del ARN codificante para env, y el número de copias de ADN de HERV-W estaban también significativamente elevados en pacientes con EM, en comparación con los controles sanos. Estos últimos resultados han sido confirmados posteriormente en otro estudio, en el que se describe un aumento de la carga proviral de HERV-W, es decir, del número de copias de HERV-W repartidas por el genoma, en los pacientes con EM en comparación con los controles sanos; además, se describe que esta carga proviral es más elevada entre las mujeres que entre los hombres, tanto entre los pacientes con EM como en los controles sanos, sugiriendo los autores que tal vez estas diferencias descritas podrían ayudar a explicar la diferente prevalencia de la enfermedad entre hombres y mujeres⁽²⁴⁾.

El mecanismo de mimetismo molecular, propuesto tanto para EBV como para HHV-6 a la hora de explicar su posible papel en la etiopatogenia de la EM, no es ajeno a HERV-W. Recientemente, se ha analizado la posible homología entre las secuencias que codifican para las proteínas de la envuelta de los retrovirus de la familia HERV-W y de distintas proteínas de la mielina y se han realizado predicciones *in silico* de los péptidos que se derivan de estas secuencias. Los resultados del estudio apoyan la hipótesis de un posible mimetismo molecular entre epítomos de las proteínas de la envuelta (env de MSRV y sincitina-1 de HERV-W) y algunas proteínas de la mielina. Los autores plantean que un posible mimetismo molecular entre la sincitina-1 de HERV-W, que se expresa durante el proceso de placentación, y proteínas de la mielina podría apoyar una mayor prevalencia de la enfermedad entre mujeres⁽²⁵⁾.

Además, se ha descrito que, cuando los pacientes con EM responden a alguna de las terapias modificadoras de la enfermedad, disminuye también la expresión de MSRV. Esto ha sido publicado, en relación con interferón beta, en 2 estudios independientes; en uno de estos estudios se observó una disminución de la viremia de MSRV y en el otro de los títulos de anticuerpos frente a la proteína env de HERV-W, después de iniciada la terapia con interferón beta, encontrándose una correlación entre la eficacia de esta terapia y el grado de disminución de la carga viral y los títulos de anticuerpos.

El tratamiento con natalizumab también es capaz de reducir los niveles de expresión de HERV-W/MSRV/sincitina-1 de forma paralela a los beneficios clínicos observados en los pacientes tratados con esta terapia, tal y como se ha observado tanto por citometría de flujo como por RT-PCR. Resultados similares se han obtenido al comparar pacientes tratados con fingolimod, azatioprina y acetato de glatirámico con pacientes no tratados.

En vista de estos hallazgos, se han intentado desarrollar terapias que tuvieran como diana la proteína env de HERV-W. Así, un ensayo clínico (CHANGE-MS: Clinical Trial Assessing the HERV-W Env Antagonist GNBAC1 for Efficacy in MS. NCT02782858) que se está

realizando en la actualidad con un anticuerpo monoclonal dirigido contra esta proteína, completó su fase 2a, mostrándose como un fármaco seguro y bien tolerado⁽²⁶⁾. En octubre de 2018 se presentaron los resultados del estudio en su fase 2b tras 48 semanas de tratamiento. En este ensayo, con 270 pacientes reclutados, los estudios de RM mostraron un efecto neuroprotector sobre la atrofia cerebral cortical y talámica ($p = 0,045$ y $p = 0,014$, respectivamente) al comparar la dosis más alta (18 mg/kg) con el grupo placebo. Además, el número de lesiones en T1 (agujeros negros), un marcador de destrucción permanente del tejido cerebral, se redujo significativamente en el grupo con la dosis más alta frente al grupo placebo ($p = 0,014$).

En los últimos años, otros HERV han sido asociados también con la etiopatogenia de la EM (**Tabla 4**):

- **HERV-H:** fue asociado por primera vez con la EM en el año 2000 por Tove Christensen, en un estudio en el que trataron de caracterizar partículas retrovirales obtenidas a partir de líneas de células B linfoblastoides; los autores encontraron presencia de HERV-H en un grupo de pacientes con EM, pero no en controles sanos. Estudios posteriores han confirmado la presencia de antígenos de HERV-H, en concreto de la proteína env de este retrovirus, en la superficie de células B y monocitos de pacientes con EM en brote, sugiriendo que la expresión de estas proteínas podría estar asociada con la fase activa de la enfermedad. Recientemente también se ha publicado la disminución significativa de la seroreactividad frente a los antígenos de la envuelta de HERV-H en relación con la eficacia del tratamiento con interferón beta en pacientes con EM⁽²⁷⁾.

- **HERV-K18:** la posible implicación de este retrovirus en la EM fue propuesta por primera vez en 2008 y se basaba en que la proteína env de HERV-K18 es un superantígeno asociado a EBV; los autores encontraron una asociación entre la distinta distribución de los genotipos de HERV-K18, en concreto del haplotipo K18.3, y el riesgo a padecer EM, sugiriendo que estas variaciones podrían estar influenciando la susceptibilidad genética a padecer EM. Posteriormente se publicó un estudio en el que se realizó un metaanálisis con más de 5.000 pacientes con diferentes enfermedades autoinmunes y más de 4.000 controles, en el que se confirmó la asociación del haplotipo K18.3 presente en el cromosoma 1 con la susceptibilidad a padecer diferentes enfermedades autoinmunes⁽²⁸⁾.

Tabla 4. Clasificación de los retrovirus endógenos humanos (HERV) asociados con la esclerosis múltiple (EM)

Género	HERV	ORF* codificantes	Comentarios
<i>Betaretrovirus</i>	HERV-K	Gag, Pol, Env, Rec	Es una superfamilia de retrovirus
<i>Gammaretrovirus</i>	HERV-H/F	Gag, Pol, Env	HERV-Fc1 es el HERV más completo de la familia
	HERV-W	Gag, Pol, Env	El ORF de env de HERV-W/ERWV-1 del cr. 7q21.2 codifica para sincitina-1 Se desconoce la localización exacta del ORF de env de MSRV

* ORF: marco abierto de lectura (open reading frame)

- HERV-Fc1: ha sido el último de los HERV asociado con la EM. En el año 2011, Bjørn A. Nexø describió que la presencia de una serie de SNP (*single nucleotide polymorphism*) alrededor del *locus* retroviral de HERV-Fc1 mostraba una asociación altamente significativa con la enfermedad, sugiriendo su papel en la etiología de la EM como parte de la susceptibilidad genética a padecer esta enfermedad. Estudios posteriores han confirmado esta asociación genética entre HERV-Fc1 y la EM. Por último, se ha descrito que los niveles de ARN extracelular de HERV-Fc1 estaban 4 veces más elevados en pacientes con EM activa que en controles sanos, sugiriéndose su posible implicación en los procesos autoinmunes que desencadenarían la EM⁽²⁹⁾. Recientemente, se ha propuesto que estas secuencias retrovirales, pertenecientes inicialmente a la familia HERV-F, podrían ser encuadradas también en la familia HERV-H, hablándose en la actualidad de la familia HERV-H/F debido a su similitud genética⁽²⁷⁾.

Uno de los aspectos más interesantes de la posible implicación de los HERV en la etiopatogenia de la EM es que uno de los mecanismos propuestos a través del cual los herpesvirus humanos podrían desencadenar la enfermedad sería por medio de una compleja interacción con los HERV. Los herpesvirus serían, por tanto, capaces de reactivar la expresión e incluso la replicación de secuencias génicas de origen retroviral, principalmente en macrófagos y glía, lo que supondría un importante nexo de unión para gran parte de los resultados obtenidos en los estudios realizados a lo largo de los últimos años.

El hecho de que, como se ha expuesto más arriba, los HERV se reactiven más en pacientes con EM que en controles sanos puede ser debido a: diferencias en la secuencia génica de las repeticiones terminales largas (LTR, por sus siglas en inglés) de dichos pacientes que facilitarían su transactivación por los factores virales y a la mayor prevalencia/reactivación/replicación activa de algunos virus (como EBV y HHV-6), que inducirían la transactivación de los HERV. En un estudio *in vitro* se estimularon células mononucleares de sangre periférica tanto de pacientes como de controles con viriones/péptidos de HERV-W solamente y no se encontraron diferencias entre ambos grupos en cuanto a la proliferación celular; sin embargo, cuando se combinaron antígenos de HERV-W con antígenos de herpesvirus se incrementó la respuesta celular inmune tanto de pacientes como de controles. Resultados similares han sido encontrados posteriormente por otros autores.

Se ha demostrado que la presencia de antígenos de herpesvirus, y no su replicación activa, es suficiente para activar la expresión de los HERV en células procedentes de pacientes con EM y controles, si bien solo en las células de pacientes de EM la respuesta parece mantenerse en el tiempo. También se ha descrito que el HHV-6, tanto en su forma latente como durante la infección activa, es capaz de transactivar HERV-K18, otro retrovirus endógeno asociado con la EM. Recientemente, se ha publicado un trabajo en el que se observa que EBV es capaz de activar, *in vitro*, HERV-W/MSRV/sincitina-1 en células que derivan de sangre y cerebro; los autores plantean un modelo en el que se incluiría una infección inicial por EBV, como desencadenante de la futura EM años después, y una progresiva activación de HERV-W/MSRV/sincitina-1, que actuaría como principal componente de la patogenicidad de la EM, en claro paralelismo con el comportamiento descrito para el inicio de la enfermedad⁽³⁰⁾.

Por último, la publicación de un caso clínico en el que se describía cómo, en un paciente diagnosticado de forma simultánea de EM y sida, remitían completamente los síntomas relacionados con la EM tras el comienzo de la terapia antirretroviral de alta actividad, perma-

neciendo estable durante años, ha despertado un gran interés. Dos estudios realizados posteriormente, en la cohorte danesa primero y en la inglesa después, han corroborado que el tratamiento de la infección por el VIH podría estar asociado con el riesgo significativamente más bajo de desarrollar EM entre los pacientes que sufren una infección por este virus. Estos resultados han contribuido a despertar el interés por el efecto que las terapias antirretrovirales podrían tener en el tratamiento de la EM; así, recientemente comenzó el ensayo clínico *INSPIRE (Raltegravir (Isentress) Pilot Study in Relapsing Multiple Sclerosis*. NCT01767701)⁽²⁷⁾.

6. CONCLUSIONES

- Aunque hasta el momento no existen evidencias definitivas que relacionen de forma inequívoca ninguno de los virus mencionados con la patogenia de la EM, los distintos estudios parecen apoyar la posible implicación de uno o más de estos agentes infecciosos en la etiopatogenia de esta enfermedad.
 - En relación con el EBV, las evidencias acumuladas en los últimos años parecen indicar que este virus podría ser un agente necesario para el desencadenamiento de la EM. Sin embargo, su asociación con otras enfermedades autoinmunes sugiere que podría ser un iniciador no específico de la cascada autoinmune.
 - En cuanto al HHV-6, este virus presenta una tasa de reactivación/replicación activa más elevada en los pacientes con EM que en los controles sanos. Esto ha hecho que algunos estudios lo asocien como un posible factor de predisposición en la aparición de brotes a lo largo de la enfermedad.
 - No existen resultados concluyentes que apoyen o descarten la posible implicación del CMV en la etiopatogenia de la EM. Sin embargo, su clara relación con la edad y los procesos de inmunosenescencia sugiere su investigación en las formas progresivas de la enfermedad.
 - La mayor carga proviral de los HERV, así como la mayor tasa de transactivación, descritas en los pacientes de EM parecen apoyar su posible implicación en la enfermedad. Las interacciones descritas con otros virus asociados también con la etiopatogenia de la EM afirmarían su posible papel en la cascada de procesos autoinmunes que llevan al desencadenamiento y posterior mantenimiento de la enfermedad.
 - No conviene olvidar que, del mismo modo que es aceptado por todos que la EM es una enfermedad poligénica, en la que distintos genes contribuirían a su susceptibilidad, es posible que también se trate de una enfermedad “polivírica” en la que más de uno de estos agentes infecciosos contribuiría o interaccionaría con los otros para desencadenar el proceso autoinmune que da lugar a la EM.
-

BIBLIOGRAFÍA

1. Geginat J, Paroni M, Pagani M, Galimberti D, De Francesco R, Scarpini E, Abrignani S. The Enigmatic Role of Viruses in Multiple Sclerosis: Molecular Mimicry or Disturbed Immune Surveillance? *Trends Immunol.* 2017;38:498-512.
2. Mentis AA, Dardiotis E, Grigoriadis N, Petinaki E, Hadjigeorgiou GM. Viruses and Multiple Sclerosis: From Mechanisms and Pathways to Translational Research Opportunities. *Mol Neurobiol.* 2017;54:3911-23.
3. Almohmeed YH, Avenell A, Aucott L, Vickers MA. Systematic review and meta-analysis of the sero-epidemiological association between Epstein Barr virus and multiple sclerosis. *PLoS One.* 2013;8:e61110.
4. Handel AE, Williamson AJ, Disanto G, Handunnetthi L, Giovannoni G, Ramagopalan SV. An updated meta-analysis of risk of multiple sclerosis following infectious mononucleosis. *PLoS One.* 2010;5:e12496.
5. Giovannoni G. Multiple sclerosis: the environment and causation. *Curr Opin Neurol.* 2007;20:261-8.
6. Ascherio A. Environmental risk factors for multiple sclerosis. Part I: the role of infection. *Ann Neurol.* 2007;61:288-99.
7. Lünemann JD, Tintoré M, Messmer B, Strowig T, Rovira A, Perkal H, et al. Elevated Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen-1 immune responses predict conversion to multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 2010;67:159-69.
8. Hassani A, Corboy JR, Al-Salam S, Khan G. Epstein-Barr virus is present in the brain of most cases of multiple sclerosis and may engage more than just B cells. *PLoS One.* 2018;13:e0192109.
9. Tzartos JS, Khan G, Vossenkamper A, Cruz-Sadaba M, Lonardi S, Sefia E, et al. Association of innate immune activation with latent Epstein-Barr virus in active MS lesions. *Neurology.* 2012;78:15-23.
10. Najafipour A, Roghanian R, Zarkesh-Esfahani SH, Bouzari M, Etemadifar M. The beneficial effects of vitamin D3 on reducing antibody titers against Epstein-Barr virus in multiple sclerosis patients. *Cell Immunol.* 2015;294:9-12.
11. Ablashi D, Agut H, Álvarez-Lafuente R, Clark DA, Dewhurst S, DiLuca D, et al. Classification of HHV-6A and HHV-6B as distinct viruses. *Arch Virol.* 2014;159:863-70.
12. Challoner PB, Smith KT, Parker JD, MacLeod DL, Coulter SN, Rose TM, et al. Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92:7440-4.
13. Leibovitch EC, Jacobson S. Viruses in chronic progressive neurologic disease. *Mult Scler.* 2018;24:48-52.
14. Ben-Fredj N, Ben-Selma W, Rotola A, Nefzi F, Benedetti S, Frih-Ayed M, et al. Prevalence of human herpesvirus U94/REP antibodies and DNA in Tunisian multiple sclerosis patients. *J Neurovirol.* 2013;19:42-7.
15. García-Montojo M, De Las Heras V, Domínguez-Mozo M, Bartolomé M, García-Martínez MA, Arroyo R, et al. Human herpesvirus 6 and effectiveness of interferon 1b in multiple sclerosis patients. *Eur J Neurol.* 2011;18:1027-35.
16. Ortega-Madueño I, García-Montojo M, Domínguez-Mozo MI, García-Martínez A, Arias-Leal AM, Casanova I, et al. Anti-human herpesvirus 6A/B IgG correlates with relapses and progression in multiple sclerosis. *PLoS One.* 2014;9:e104836.
17. Soldan SS, Leist TP, Juhng KN, McFarland HF, Jacobson S. Increased lymphoproliferative response to human herpesvirus type 6A variant in multiple sclerosis patients. *Ann Neurol.* 2000;47:306-13.

18. Alenda R, Álvarez-Lafuente R, Costa-Frossard L, Arroyo R, Mirete S, Álvarez-Cermeño JC, Villar LM. Identification of the major HHV-6 antigen recognized by cerebrospinal fluid IgG in multiple sclerosis. *Eur J Neurol.* 2014;21:1096-101.
19. Domínguez-Mozo MI, García-Montojo M, De Las Heras V, García-Martínez A, Arias-Leal AM, Casanova I, et al. MHC2TA mRNA levels and human herpesvirus 6 in multiple sclerosis patients treated with interferon beta along two-year follow-up. *BMC Neurol.* 2012;12:107.
20. Pormohammad A, Azimi T, Falah F, Faghihloo E. Relationship of Human Herpes Virus 6 and Multiple Sclerosis: a Systematic Review and Meta-analysis. *J Cell Physiol.* 2018;233:2850-62.
21. Sundqvist E, Bergström T, Daialhosein H, Nyström M, Sundström P, Hillert J, et al. Cytomegalovirus seropositivity is negatively associated with multiple sclerosis. *Mult Scler J.* 2014;20:165-73.
22. Vanheusden M, Broux B, Welten SP, Peeters LM, Panagioti E, Van Wijmeersch B, et al. Cytomegalovirus infection exacerbates autoimmune mediated neuroinflammation. *Sci Rep.* 2017;7:663.
23. Martínez-Rodríguez JE, Cobo-Calvo A, Villar LM, Munteis E, Blanco Y, Rasal R, et al. Adaptive natural killer cell response to cytomegalovirus and disability progression in multiple sclerosis. *Mult Scler. J* 2016;22:741-52.
24. García-Montojo M, Domínguez-Mozo M, Arias-Leal A, García-Martínez A, De las Heras V, Casanova I, et al. The DNA copy number of human endogenous retrovirus-W (MSRV-type) is increased in multiple sclerosis patients and is influenced by gender and disease severity. *PLoS One.* 2013;8:e53623.
25. Ramasamy R, Joseph B, Whittall T. Potential molecular mimicry between the human endogenousretrovirus W family envelope proteins and myelin proteins inmultiple sclerosis. *Immunol Lett.* 2017;183:79-85.
26. Dolei A. The aliens inside us: HERV-W endogenous retroviruses and multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2018;24:42-7.
27. Christensen T. Human endogenous retroviruses in the aetiology of MS. *Acta Neurol Scand.* 2017;136 Suppl 201:18-21.
28. De la Hera B, Varadé J, García-Montojo M, Lamas JR, de la Encarnación A, Arroyo R, et al. Role of the Human Endogenous Retrovirus HERV-K18 in Autoimmune Disease Susceptibility: Study in the Spanish Population and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2013;8:e62090.
29. Nexø BA, Christensen T, Frederiksen J, Møller-Larsen A, Oturai AB, Villesen P, et al. The etiology of multiple sclerosis: genetic evidence for the involvement of the human endogenous retrovirus HERV-Fc1. *PLoS One.* 2011;6:e16652.
30. Mameli G, Poddighe L, Mei A, Uleri E, Sotgiu S, Serra C, et al. Expression and activation by Epstein Barr virus of human endogenous retroviruses-W in blood cells and astrocytes: inference for multiple sclerosis. *PLoS One.* 2012;7:e44991.

VITAMINA D Y OTROS FACTORES AMBIENTALES

2.1. VITAMINA D

Autores | **Cristina Croissier Elías¹, Silvia Pérez Pérez²,
Roberto Álvarez-Lafuente²**
Editores | **Óscar Fernández y Fernández³,
Juan Antonio García Merino⁴**

¹ Servicio de Neurología. Hospital Universitario de Canarias. San Cristóbal de la Laguna, Tenerife

² Grupo de Investigación de Esclerosis Múltiple. Hospital Clínico San Carlos/Instituto de Investigación Sanitaria San Carlos (IdISSC). Madrid

³ Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA). Hospital Regional Universitario de Málaga

⁴ Unidad de Neuroinmunología. Servicio de Neurología. Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Madrid

1. Obtención y metabolismo

1.1. Obtención

1.2. Síntesis

1.3. Degradación

2. Mecanismo de acción y funciones

2.1. Acciones genómicas

2.2. Acciones no genómicas

3. Vitamina D en la etiopatogenia de la esclerosis múltiple

3.1. Inmunorregulación

3.2. Genética

3.3. Virus

3.4. Microbiota

3.5. Encefalomiелitis autoinmune experimental

3.6. Factores de confusión

4. Niveles séricos de vitamina D y susceptibilidad de la esclerosis múltiple

4.1. Relación entre niveles en embarazo, recién nacidos, infancia y adolescencia y riesgo posterior de esclerosis múltiple

4.1.1. Exposición solar y riesgo de esclerosis múltiple

4.1.2. Epidemiología del efecto de la vitamina D como factor de riesgo en la esclerosis múltiple

4.1.3. Niveles de vitamina D en esclerosis múltiple

4.2. Efecto de la vitamina D en el síndrome clínicamente aislado

5. Efecto de la vitamina D en la actividad y la progresión de la esclerosis múltiple

6. Fármacos modificadores de la enfermedad y vitamina D

6.1. Vitamina D, interferón beta y acetato de glatirámero

6.2. Vitamina D y fingolimod

6.3. Vitamina D y natalizumab

7. Evidencia clínica actual sobre el efecto de la suplementación

8. Consideraciones sobre la suplementación en la práctica clínica

8.1. Niveles séricos

8.2. Intoxicación

8.3. Suplementación

9. Conclusiones

Bibliografía

RESUMEN

En 1922, Elmer V. McCollum observa que, tras destruir la vitamina A del aceite de hígado de bacalao, no desaparece su acción antirraquítica. Nombra a la nueva sustancia aislada vitamina D. Tradicionalmente, la importancia de la vitamina D ha estado ligada a su papel en la mineralización ósea. La vitamina D regula la absorción de calcio en los huesos y su deficiencia conduce al desarrollo de raquitismo. También está implicada en otros procesos fisiológicos, tales como el control de la calcemia y la fosfatemia, la regulación de la liberación de parathormona (PTH) o la inmunorregulación. En los últimos años, su déficit ha sido relacionado con el riesgo de desarrollar diferentes tumores y enfermedades autoinmunes, como es el caso de la esclerosis múltiple (EM). Las funciones inmunorreguladoras de la vitamina D, sumadas a evidencias clínicas como el hecho de que los niveles de vitamina D sean significativamente inferiores en los pacientes que en la población sana, hacen que la hipovitaminosis D se postule cada vez más como uno de los posibles agentes desencadenantes de la enfermedad. Además, también se ha relacionado su déficit con mayor actividad, peor pronóstico e incluso con el riesgo de conversión desde un síndrome clínicamente aislado (clinically isolated syndrome –CIS–) a EM. También parece existir una acción sinérgica con ciertos fármacos modificadores de la enfermedad (disease modifying treatments –DMT–), aumentando su eficacia. El beneficio de la suplementación con vitamina D sobre la actividad/progresión de la enfermedad es mucho más controvertido, no existiendo en la actualidad estudios con suficiente potencia que permitan establecer una asociación inequívoca entre ambos. El presente texto aborda tanto aspectos básicos relacionados con el metabolismo y la actuación de la vitamina D, como evidencias experimentales y clínicas que la relacionan con la etiopatogenia de la EM.

1. OBTENCIÓN Y METABOLISMO

1.1. OBTENCIÓN

La vitamina D es una provitamina liposoluble. Existen 2 formas de vitamina D: la vitamina D₃, o colecalciferol, y la vitamina D₂, o ergosterol. La principal fuente de obtención de la vitamina D₃ es su biosíntesis a nivel de las células epiteliales tras la exposición a la luz solar. En ellas, la radiación ultravioleta B (UVB) propicia la fotólisis del 7-dehidrocolesterol, dando lugar al precolecalciferol y, posteriormente, al colecalciferol. Pese a que esta representa un 80-90% del total de la vitamina D presente en el organismo, también puede proceder de su ingesta mediante la dieta (vitamina D₂ y D₃). Dentro de los alimentos ricos en vitamina D, destaca el pescado azul, aunque también está presente en otros pescados, así como en legumbres, huevos o setas⁽¹⁾.

Existen factores, como la edad, la pigmentación de la piel o el uso de protectores solares, que pueden alterar la biosíntesis de vitamina D, llegando a ser la ingesta (de la dieta o de suplementos) la principal fuente de obtención. Sin embargo, el principal factor que influye en la producción de vitamina D es el grado de exposición a la luz solar. Por eso, se ha descrito una fluctuación en los niveles de vitamina D a lo largo del año, siendo estos más bajos en el primer semestre y más elevados en el segundo semestre, cuando aumentan las horas de luz⁽²⁾.

1.2. SÍNTESIS

Tanto la vitamina D₂ como la D₃ son moléculas inactivas y necesitan ser doblemente hidroxiladas. Para ello, son transportadas a través del torrente sanguíneo por la proteína de unión a vitamina D (*vitamin D binding protein* –DBP–) y, en menor medida, por la albúmina. Las enzimas encargadas de la activación de la vitamina D forman parte de la familia del citocromo P450 (*cytochrome P450* –CYP–). En primer lugar, las enzimas con actividad 25-hidroxilasa transforman la vitamina D en 25-hidroxivitamina D (calcidiol, 25-OH-D). Se trata de enzimas principalmente hepáticas, aunque su expresión está ampliamente distribuida a lo largo del cuerpo. Los principales productores de 25-OH-D del organismo son el CYP27A1 y el CYP2R1. Mientras que el primero de ellos se localiza a nivel mitocondrial y únicamente metaboliza la forma D₃, el último es una enzima microsomal capaz de actuar sobre ambas formas de la vitamina D. Otros ejemplos de 25-hidroxilasas son el CYP3A4 o el CYP2J2⁽²⁾.

Pese a no ser la molécula activa, debido a sus características metabólicas (la regulación de la 25-hidroxilasa no es tan estricta como la de la 1 α -hidroxilasa) y a su relativamente larga vida media (20-60 días), la 25-OH-D es la empleada como indicador de los niveles séricos de vitamina D⁽³⁾.

La segunda reacción de hidroxilación da lugar a la 1 α ,25-dihidroxivitamina D –calcitriol, 1 α ,25-(OH)₂-D–, es decir, la forma activa de la vitamina D. A diferencia de la reacción anterior, la 1 α -hidroxilación es llevada a cabo únicamente por el CYP27B1. El CYP27B1 se expresa mayoritariamente a nivel renal, aunque también está presente en otras localizaciones como son: células epiteliales, pulmones, mamas, intestino, próstata, páncreas, tiroides, glándulas endocrinas, testículos, ovarios, placenta, células del sistema inmunitario, osteoclastos, condrocitos y algunas células tumorales derivadas de las anteriores. La actividad

del CYP27B1 está enormemente controlada. Entre los factores que intervienen en su regulación renal se encuentran la parathormona (PTH), el factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FCF23) y la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$. Mientras que la PTH estimula la actividad 1α -hidroxilasa, el FCF23 y la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ ejercen un control negativo sobre la enzima⁽²⁾.

1.3. DEGRADACIÓN

La principal ruta de eliminación de la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ del organismo se inicia con la formación de ácido calcitroico. Se trata de una molécula hidrosoluble, mediante la cual se excreta el exceso de vitamina D a través de la vía biliar. Sin embargo, el ácido calcitroico también ejerce funciones fisiológicas más allá de actuar como intermediario inactivo en la degradación de la vitamina D.

La formación de ácido calcitroico es catalizada por la enzima CYP24A1, la cual presenta actividad 24-hidroxilasa y se expresa principalmente a nivel renal. Esta enzima también posee actividad 23-hidroxilasa, dando lugar a un compuesto biológicamente activo ($1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D-26,23-lactona}$). La regulación de esta enzima está mediada por las mismas moléculas que intervienen en la del CYP27B1, pero de manera inversa. Dado que la principal función de esta enzima es regular los niveles de vitamina D en el organismo, su expresión se encuentra alterada en diferentes enfermedades relacionadas con alteraciones en los niveles de vitamina D, siendo una diana potencial en terapias contra dichas enfermedades⁽²⁾.

La **Figura 1** resume el proceso de obtención y metabolización de la vitamina D en el organismo.

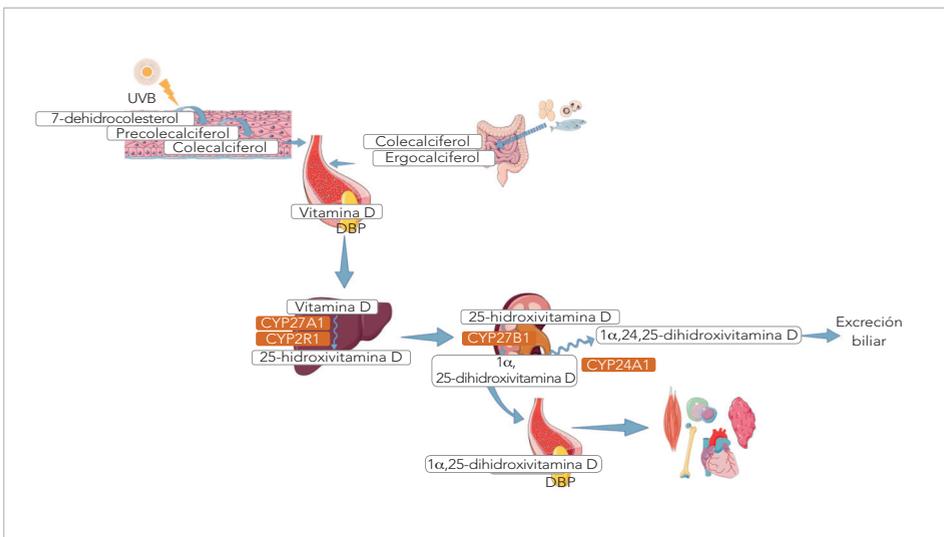


Figura 1. Metabolismo de la vitamina D. La vitamina D sintetizada a nivel epitelial o ingerida es inactiva y debe ser doblemente hidroxilada, primero a nivel hepático y, posteriormente, a nivel renal. Sin embargo, esta segunda hidroxilación también puede llevarse a cabo en otras localizaciones, tales como las células inmunitarias, donde la vitamina D activa $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ ejerce sus funciones. DBP: proteína de unión a vitamina D; UVB: ultravioleta B.

2. MECANISMO DE ACCIÓN Y FUNCIONES

La vitamina D, en su forma activa $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$, es capaz de ejercer diversas funciones en distintas dianas. En función de la rapidez con la que tienen lugar los efectos derivados de la actuación de la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$, se distinguen 2 tipos de acciones: las genómicas, caracterizadas por requerir tiempos más largos, y las no genómicas, cuyos efectos se muestran con rapidez tras la actuación de la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$.

2.1. ACCIONES GENÓMICAS

La $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ se une a los receptores de vitamina D (*vitamin D receptor* –VDR–) presentes en el citoplasma de las células diana. Estos receptores forman parte de la superfamilia de receptores nucleares y se expresan en multitud de tejidos, tales como el cerebro, el corazón, la piel, los testículos o los ovarios. Los VDR regulan la expresión génica de un modo ligando-dependiente.

La unión de la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ al VDR permite la translocación del complejo al interior del núcleo. Es aquí donde el VDR heterodimeriza con el receptor de retinoides X (*retinoid X receptor* –RXR–). Dicho heterodímero es capaz de unirse a los elementos de respuesta a vitamina D (*vitamin D response element* –VDRE–) presentes en los promotores de más de 500 genes del genoma humano. De este modo, la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ interviene en la regulación de la expresión de en torno a un 5-10% del genoma humano⁽⁴⁾.

Debido al gran número de genes regulados por la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ y a la diversidad de tipos celulares en los que actúa como diana, la lista de efectos mediados por la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ es muy amplia. Algunos de ellos se destacan a continuación:

- Regulación de la homeostasis del calcio y el fósforo, actuando a nivel intestinal, renal, óseo y paratiroideo.
- Control de la progresión del ciclo celular.
- Inhibición del crecimiento de los queratinocitos.
- Supresión de tumores.
- Regulación del crecimiento, la proliferación y la diferenciación celular.
- Regulación de la expresión de enzimas responsables del metabolismo de esteroides.
- Regulación del metabolismo óseo, participando en procesos de mineralización, control del número de osteoclastos, etc.
- Neuroregulación, actuando directamente sobre neuronas, astrocitos, microglía y oligodendrocitos. Todas estas células presentan VDR, a través del cual la vitamina D promovería procesos neuroprotectores, neurotróficos, remielinizantes, etc.
- Control de la expresión de enzimas y hormonas que participan en el metabolismo de la propia vitamina D. Ejerce un control negativo sobre la liberación de PTH, así como sobre la expresión del CYP27B1, pero positivo sobre la expresión del CYP24A1.
- Inmunoregulación, ejerciendo control sobre la proliferación celular o la síntesis y liberación de citocinas, y promoviendo la homeostasis inmunitaria.

2.2. ACCIONES NO GENÓMICAS

Las acciones no genómicas son aquellas que conllevan efectos que se muestran en un tiempo tan corto que no pueden involucrar procesos de regulación de la transcripción

génica. En ellos participa un VDR no clásico, presente en la membrana plasmática (en dominios de balsas lipídicas), que desencadena cascadas de señalización celular que conducen a la activación e inhibición de enzimas concretas. Sin embargo, esta vía puede actuar de manera indirecta sobre el genoma, mediante la activación de otras vías de regulación de la transcripción⁽²⁾.

Dentro de estas acciones cabe destacar la estimulación rápida del transporte de calcio intestinal, la regulación de enzimas y canales iónicos, cambios en la fluidez de la membrana o acciones sobre la matriz extracelular. Además, los efectos derivados de estas acciones pueden actuar sinérgicamente con los producidos por la vía clásica de actuación de la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$.

3. VITAMINA D EN LA ETIOPATOGENIA DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

3.1. INMUNORREGULACIÓN

Como se ha mencionado previamente, la vitamina D ejerce una amplia variedad de funciones en el organismo. Entre ellas, la que implica una relación más directa entre la deficiencia de la vitamina D y el desarrollo de esclerosis múltiple (EM) es la inmunorregulación. La fisiopatología de la EM muestra una alteración general de la respuesta inmunitaria. En general, los efectos mediados por la vitamina D desencadenan acciones antiinflamatorias o frenan las proinflamatorias (promueve la respuesta T-reguladora, mientras que inhibe las respuestas TH1 y TH17, entre otras)⁽¹⁾.

Se ha descrito la presencia del VDR en casi la totalidad de las células inmunitarias, estando su expresión asimismo regulada por señales inmunitarias; mientras que la expresión aumenta en los linfocitos tras su activación, se reduce como consecuencia de la maduración de monocitos a células dendríticas y macrófagos.

Como se ha mencionado previamente, las células del sistema inmunitario también expresan enzimas implicadas en el metabolismo de la vitamina D. En general, todas las células en las que la vitamina D ejerce función expresan el CYP27B1, aunque su regulación es diferente a la que tiene lugar en el riñón y en ella participan citocinas, factores activados por respuesta inmunitaria, etc. Esto posibilita un efecto y control directos de la vitamina D sobre el sistema inmunitario⁽⁴⁾ (**Figura 2**).

En relación con la respuesta inmunitaria innata, la vitamina D favorece el control de patógenos y la diferenciación de los monocitos hacia células dendríticas y macrófagos. En concreto, se estimula la expresión de defensinas, la actividad de la óxido nítrico sintasa, la ruta de señalización de NF- κ B, etc.⁽⁵⁾. La falta de vitamina D conlleva la desregulación de esta respuesta, lo que estaría relacionado con la hipótesis que relaciona las infecciones virales con el desarrollo de EM.

La vitamina D también actúa en la respuesta inmunitaria adaptativa, favoreciendo un ambiente antiinflamatorio. Frena la maduración de las células dendríticas, reduciendo también la expresión de moléculas presentadoras de antígenos, así como de moléculas coestimuladoras (CD40, CD80, CD86, CD83...). También inhibe la síntesis de citocinas proinflamatorias, como la interleucina 12 (IL-12) o la IL-23, encargadas de conducir hacia una respuesta TH1 o TH17, respectivamente. Por el contrario, estimula la liberación de IL-10, una citocina antiinflamatoria. En el caso de los macrófagos, acontece un

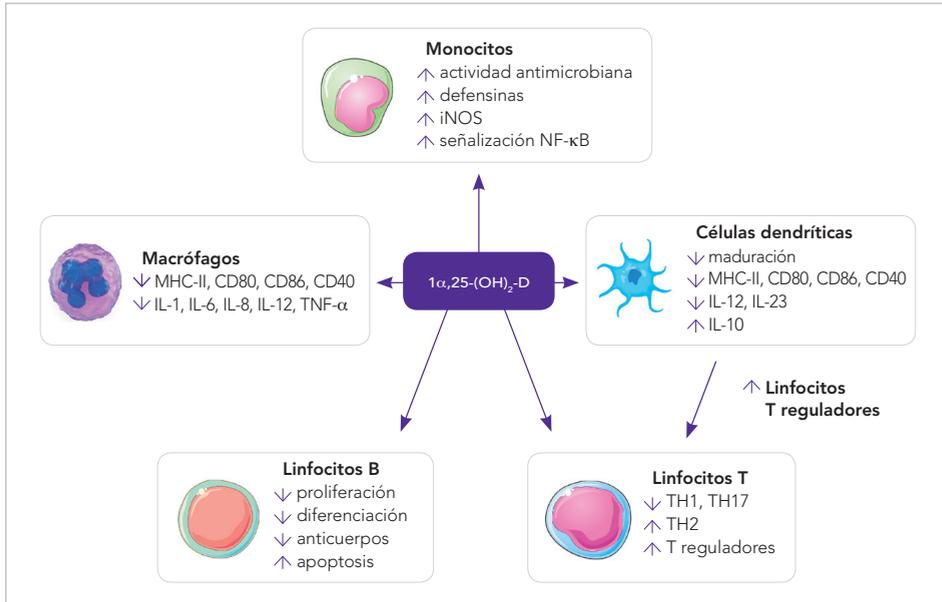


Figura 2. La vitamina D ejerce una función directa sobre el sistema inmunitario, generando un ambiente predominantemente antiinflamatorio, estimulando la respuesta ante patógenos y favoreciendo la homeostasis de la respuesta inmunitaria.

escenario muy similar, en el que también se reduce la presentación antigénica y se inhibe la síntesis de citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, factor de necrosis tumoral α -TNF- α ...)⁽⁴⁾.

Con respecto a los linfocitos, la vitamina D ejerce efectos directos sobre ellos. Actúa frenando la diferenciación de los linfocitos TH hacia una respuesta TH1 o TH17, mientras que favorece la respuesta TH2. También inhibe la producción de citocinas proinflamatorias y favorece la de citocinas antiinflamatorias, como la IL-10, que a su vez promueve el desarrollo de los linfocitos T reguladores. En cuanto a los linfocitos B, inhibe funciones de proliferación, diferenciación a células plasmáticas, producción y liberación de anticuerpos o diferenciación a células B de memoria, estimulando en general la apoptosis⁽⁴⁾.

En función de lo expuesto, la hipovitaminosis D conlleva la supresión del ambiente antiinflamatorio y la estimulación de la respuesta inmunitaria, favoreciendo así el desarrollo de la EM.

3.2. GENÉTICA

La influencia de la genética en el desarrollo de EM es innegable. Aunque la mayoría de los casos son esporádicos, existe un patrón de agregación familiar, en el que el riesgo de desarrollar la enfermedad aumenta con el grado de consanguinidad. El sistema del antígeno leucocitario humano (*human leukocyte antigen* -HLA-) es el principal factor de riesgo genético para el desarrollo de EM. En concreto, el alelo DRB1*15:01 y su correspondiente haplotipo, DRB1*15:01-DQA1*01:02-DQB1*06:02, triplican el riesgo de

padecer la enfermedad. De manera opuesta, la presencia del alelo A*02:01 juega en papel protector en el desarrollo de la EM.

Entre las muchas evidencias que postulan una posible relación entre la vitamina D y el desarrollo de EM, cabe destacar las relacionadas con el componente genético. Precisamente el promotor del gen que codifica el HLA DRB1*15:01, mencionado previamente, presenta un VDRE altamente conservado. Se ha comprobado cómo el VDR es capaz de unirse a este VDRE con una afinidad muy superior a la de unión con otros VDRE. Además, la estimulación *in vitro* con $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ da lugar a un incremento en la expresión del DRB1*15:01 de hasta 6 veces⁽³⁾. También se ha descrito una correlación entre la presencia de este alelo y los niveles de vitamina D, así como con la tasa de brotes o la exposición a la luz solar⁽¹⁾.

En función de lo expuesto, podría existir una relación entre la presencia del alelo DRB1*15:01 y la vitamina D en el desarrollo de la EM, aunque se desconoce el mecanismo exacto que los relacionaría.

Por otra parte, los estudios de asociación del genoma completo (*genome-wide association studies* –GWAS–) han identificado una posible relación entre el riesgo de sufrir EM y variaciones en genes relacionados con el metabolismo de la vitamina D⁽³⁾. Concretamente, se ha descrito asociación con los polimorfismos de nucleótido único (*single nucleotide polymorphism* –SNP–) rs12368653 y rs2248359. El primero de ellos se encuentra en desequilibrio de ligamiento con el CYP27B1, enzima encargada de la 1α -hidroxilación, que da lugar a la forma activa de la vitamina D. En un estudio llevado a cabo en células dendríticas tolerogénicas, se ha descrito una asociación entre la presencia del alelo de riesgo (A) y un descenso en la expresión de la enzima, lo que conlleva a una reducción en los niveles de $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ ⁽⁶⁾.

El SNP rs2248359 se relaciona con el gen que codifica el CYP24A1, encargado de la inactivación de la $1\alpha,25\text{-(OH)}_2\text{-D}$ y de comenzar su ruta de degradación. El alelo de riesgo (C) para desarrollar EM se relaciona con un incremento en la expresión de la enzima, lo que conduce a una mayor tasa de degradación de la vitamina D y, por tanto, a menores niveles circulantes. Este hecho refuerza la relación entre la hipovitaminosis D y el desarrollo de EM⁽⁷⁾.

En ambos casos, la realización de estudios de aleatorización mendeliana ha mostrado una fuerte asociación entre los SNP y el desarrollo de EM. Estos estudios emplean la segregación por variantes genéticas para comprobar la asociación entre un factor de riesgo y su efecto. También se han descrito asociaciones entre polimorfismos en el gen que codifica el VDR y el riesgo de padecer EM.

3.3. VIRUS

De todos los factores ambientales relacionados con la etiopatogenia de la EM, las infecciones por virus son quizá las que más relevancia han tenido a lo largo de los años. Dentro de la larga lista de patógenos que se han propuesto como agentes desencadenantes de la enfermedad, cabe destacar el virus de Epstein-Barr, el herpesvirus humano de tipo 6 y los retrovirus endógenos humanos (*Epstein-Barr virus* –EBV–, *human herpesvirus 6* –HHV-6–, *human endogenous retroviruses* –HERV–, respectivamente).

Existen diversos estudios que evidencian una relación entre el EBV y la vitamina D. Sin embargo, es un tema que genera cierta controversia. Pese a que hay estudios que avalan una relación entre ambos factores, otros afirman no haberla encontrado. Además, en caso de

estar relacionados, tampoco hay consenso en cuanto a la forma en la que están conectados. Algunos describen una relación inversa entre los niveles de vitamina D y los títulos de anticuerpos frente al antígeno nuclear 1 del EBV (*EBV nuclear antigen 1* –EBNA-1–), al menos en población adolescente⁽⁸⁾. Otros, sin embargo, asocian los niveles de vitamina D con la carga viral, pero no con los títulos de anticuerpos⁽⁹⁾. Incluso hay estudios de intervención con suplementos de vitamina D en los que logran reducir los títulos de anticuerpos frente a EBNA-1, pero los efectos parecen ser temporales; mientras que a las 48 semanas sí se observa una disminución significativa, esta desaparece a las 96 semanas⁽¹⁰⁾.

La vitamina D, entre sus funciones inmunomoduladoras, incluye el control de las infecciones víricas. Por tanto, cabe pensar que la vitamina D pueda regular la replicación o reactivación del EBV, el cual establece latencia de por vida en los linfocitos B. Se han propuesto diversas teorías que relacionan ambos factores; a continuación se explican 3 de ellas (esquemáticas en la **Figura 3**):

- Análogos de la IL-10. La IL-10 es liberada por los linfocitos T reguladores, llevando a cabo procesos inmunorreguladores. La vitamina D, como inmunomodulador, favorece la síntesis de IL-10. Ciertos virus, como es el caso del EBV, son capaces de sintetizar un análogo de esta interleucina (vIL-10). La vIL-10 actúa bien inhibiendo la síntesis de IL-10 o bien compitiendo con ella por la unión a sus receptores. En cualquier caso, la consecuencia es la disregulación del control de la respuesta inmunitaria fruto de la acción antagonista a la de la vitamina D⁽¹¹⁾.

- Competencia por los sitios de unión en el genoma. Ciertas proteínas del EBV (por ejemplo, EBNA-2) estimulan la supervivencia y proliferación de los linfocitos B, células en las que establece latencia el virus, a través de la activación del factor de transcripción MYC. Por el contrario, la vitamina D ejerce una función de control de la proliferación de los linfocitos B mediante la inhibición de MYC, favoreciendo la homeostasis. Este antagonismo podría explicar la correlación inversa que se observa entre la infección por EBV y los niveles de vitamina D en los pacientes de EM⁽¹²⁾.

- Interacción proteica. Para que la unión del VDR a los VDRE sea efectiva, se necesita la participación de otros factores de transcripción. Dentro del complejo proteico nuclear del VDR, se encuentra la proteína EBNA-3 del virus. La unión de EBNA-3 inhibe la transcripción dependiente del VDR, de manera que impide las funciones de inmunorregulación ejercidas por la vitamina D⁽¹³⁾.

En el caso del HHV-6, a pesar de pertenecer a la familia *Herpesviridae* como el EBV, no existen publicaciones hasta el momento que referencien una asociación con la vitamina D. Sin embargo, sí se ha encontrado relación entre los niveles de vitamina D y la carga del HERV-W, existiendo una correlación inversa entre ambos factores⁽¹⁴⁾. Debido a todo lo expuesto, es necesario seguir profundizando en la posible relación entre vitamina D y virus.

3.4. MICROBIOTA

Otro de los factores de riesgo de padecer EM que ha adquirido gran relevancia en los últimos años es la microbiota intestinal. En ella se engloban bacterias, arqueas, hongos y virus establecidos en la mucosa intestinal. La microbiota juega un papel muy importante en el organismo, puesto que lo protege de la infección por patógenos externos, regula procesos metabólicos e, incluso, participa en procesos de desarrollo y homeostasis de los

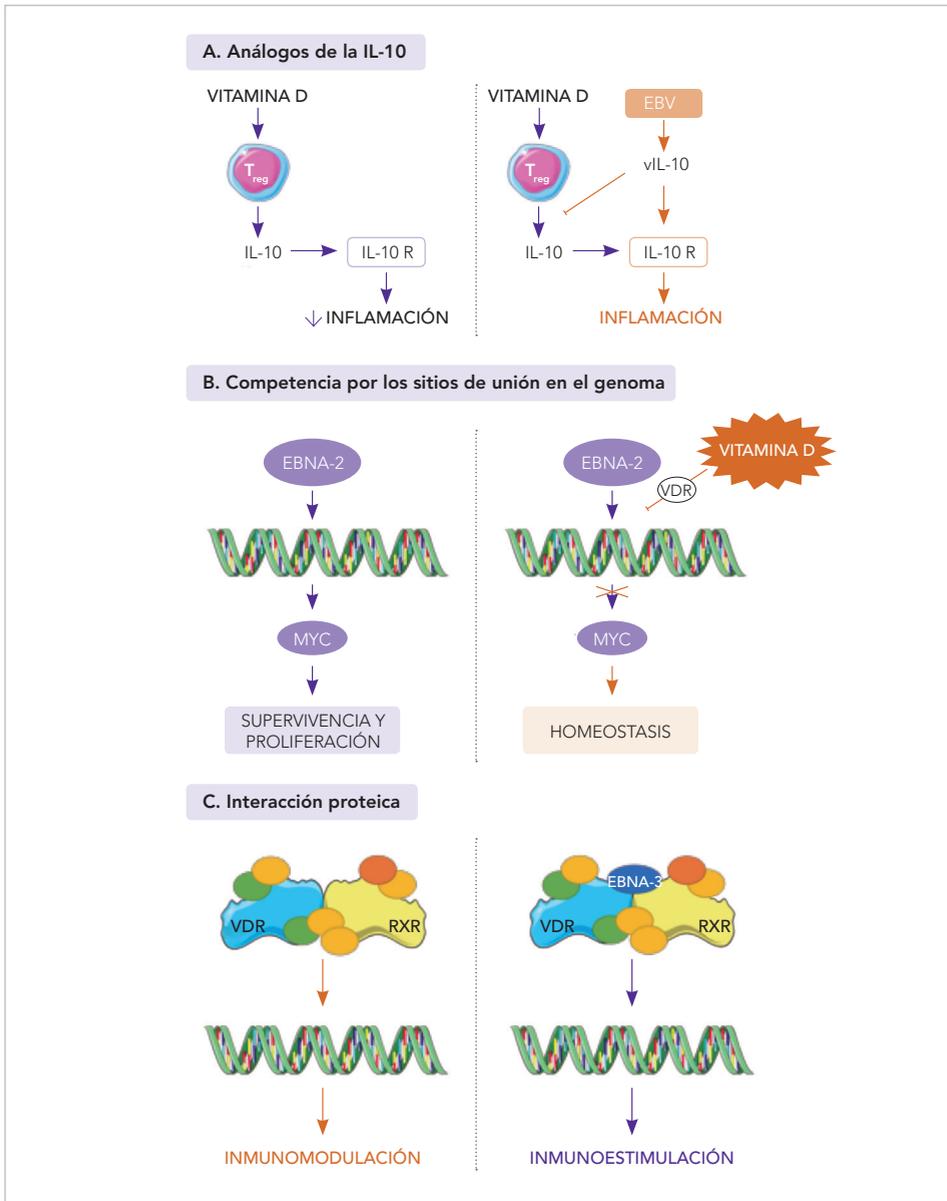


Figura 3. Distintas teorías explican la posible asociación entre la infección por virus de Epstein-Barr (EBV) y la vitamina D. En general, se proponen mecanismos antagónicos para ambos factores, ya sea involucrando a análogos de la vitamina D sintetizados por el virus (A), existiendo una competencia entre la vitamina D y las proteínas del virus por la unión al genoma (B) o por la interacción entre proteínas del virus y el receptor de vitamina D (VDR) en el complejo nuclear de unión a los elementos de respuesta a vitamina D (VDRE) (C). EBNA-2: antígeno nuclear 2 del EBV; IL-10: interleucina 10; RXR: receptor de retinoides X; VDR: receptor de vitamina D.

sistemas nervioso e inmunitario. Tanto es así, que se ha descrito la existencia de un eje “intestino-cerebro”, en el que ambos son capaces de regular la homeostasis del otro. En el caso particular de la EM, se ha observado una relación entre la existencia de disbiosis intestinal (alteraciones en la composición de la microbiota) y el desarrollo de la enfermedad.

La vitamina D posee características antibióticas y es capaz de regular la expresión de péptidos microbianos, defensas, reguladores de autofagia, etc. Por tanto, cabe pensar que dichos efectos también puedan tener una repercusión en la microbiota intestinal. Hay estudios que muestran cómo la ausencia de VDR da lugar a la aparición de disbiosis. Sin embargo, se desconoce el mecanismo exacto de regulación de la microbiota intestinal por parte de la vitamina D⁽¹⁵⁾.

Dado que tanto la hipovitaminosis D como la disbiosis intestinal son factores de susceptibilidad para padecer EM, podría existir bien una relación de causalidad o bien una potenciación de ambos, que conduciría, en cualquier caso, al desarrollo de la enfermedad.

3.5. ENCEFALOMIELITIS AUTOINMUNE EXPERIMENTAL

La encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) es el modelo animal de EM más utilizado, generalmente llevado a cabo en roedores. La mezcla de desmielinización, inflamación, pérdida axonal y gliosis da lugar a la representación más parecida de la enfermedad conseguida en modelos animales. La diversidad de métodos de inducción de la EAE la convierte en un modelo versátil y apto para el estudio de la enfermedad, así como para posibles dianas terapéuticas.

En este sentido, la vitamina D ha resultado ser eficaz en el tratamiento de la EAE. Hay estudios que demuestran cómo la administración de vitamina D puede reducir la sintomatología de la enfermedad, así como frenar su evolución. También se observan variaciones en las poblaciones de células inmunitarias, así como en los niveles de citocinas relacionadas con la enfermedad, como consecuencia del tratamiento con vitamina D⁽¹⁾.

Si bien es verdad que no existe un reflejo directo entre la EAE y la EM, y que hay que tomar estos resultados con cautela, el hecho de que la vitamina D sea efectiva como tratamiento en la EAE aporta validez al posible efecto beneficioso de la vitamina D en el tratamiento de la EM.

3.6. FACTORES DE CONFUSIÓN

Pese a todas las evidencias que apuntan a la participación de la vitamina D en la etiopatogenia de la EM, hay que tener en cuenta la existencia de factores que puedan distorsionar estas relaciones. Por ejemplo, hay factores como el color de la piel, la dieta, la exposición al sol o el uso de protección solar, entre otros, que pueden modificar los valores de vitamina D en los individuos.

También hay que tener en cuenta la estacionalidad de los niveles de vitamina D, puesto que fluctúan enormemente a lo largo del año, así como la genética de los pacientes, siendo recomendable el empleo de la aleatorización mendeliana para realizar los estudios.

En cuanto a los métodos de detección, se debe considerar la variabilidad que existe entre ellos, evitando comparar valores obtenidos por distintos métodos, pues entre ellos hay diferencias en términos de sensibilidad y especificidad.

Por último, es importante destacar la diferencia entre asociación y causalidad, de modo que las evidencias que relacionan la hipovitaminosis D con la etiopatogenia de la EM no son suficientes para asegurar su participación en la misma y es necesario profundizar en el estudio de los mecanismos concretos a través de los cuales la vitamina D podría favorecer el desarrollo de la enfermedad.

4. NIVELES SÉRICOS DE VITAMINA D Y SUSCEPTIBILIDAD DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

4.1. RELACIÓN ENTRE NIVELES EN EMBARAZO, RECIÉN NACIDOS, INFANCIA Y ADOLESCENCIA, Y RIESGO POSTERIOR DE ESCLEROSIS MÚLTIPLE

El papel fundamental de la vitamina D en el metabolismo óseo es largamente conocido, pero nuestros conocimientos en los últimos 15 años sobre las acciones extraesqueléticas de esta vitamina se han desarrollado de manera considerable, en particular sus efectos inmunomoduladores, que tienen implicaciones en algunas enfermedades inflamatorias y autoinmunes como la EM. A su vez, se han realizado grandes avances en la identificación de diferentes factores protectores y de riesgo para la EM, incluyendo la exposición al sol y la deficiencia de la vitamina D, con complejas interacciones entre ellos⁽¹⁾. Los datos obtenidos de los múltiples estudios observacionales sugieren que mantener unos niveles adecuados de vitamina D podría disminuir el riesgo de EM y modificar el curso de la enfermedad. Sin embargo, se requieren estudios destinados a intentar dilucidar qué porcentaje de estos efectos se puede atribuir a la acción de la vitamina D, evitando otros factores confundidores.

4.1.1. Exposición solar y riesgo de esclerosis múltiple

Es ampliamente conocida la influencia de la latitud en el riesgo de EM, siendo la prevalencia de la enfermedad mínima en el ecuador y aumentando a medida que nos alejamos de él. Esta prevalencia, además, varía con las migraciones realizadas en la segunda década de vida, describiéndose una disminución de la misma en aquellos sujetos que migran desde altas latitudes (con una alta prevalencia de EM) a regiones más cercanas al ecuador (con una prevalencia más baja). También existen varios estudios epidemiológicos que han detectado que la práctica de actividades al aire libre durante la infancia/adolescencia disminuye significativamente el riesgo de EM en la edad adulta; incluso, parece que el mes de nacimiento también influiría sobre dicho riesgo, siendo menor entre aquellos que nacen a finales de otoño (madres con mayor exposición solar durante la mayor parte del embarazo) y más elevado en los nacidos a finales de primavera. Sin embargo, esta relación con la latitud parece que estaría disminuyendo en las últimas décadas. Esto se podría explicar como consecuencia de los nuevos hábitos de vida que llevarían a evitar la exposición solar y las actividades al aire libre, incluso en los climas más templados⁽³⁾.

Debido a la evidente relación entre exposición solar y niveles de vitamina D, cabe pensar que la causa de que la EM tenga una mayor prevalencia en zonas alejadas del ecuador sea el déficit en vitamina D (**Figura 4**). Sin embargo, la radiación UVB también desencadena procesos inmunomoduladores independientes de la vitamina D. Dentro de

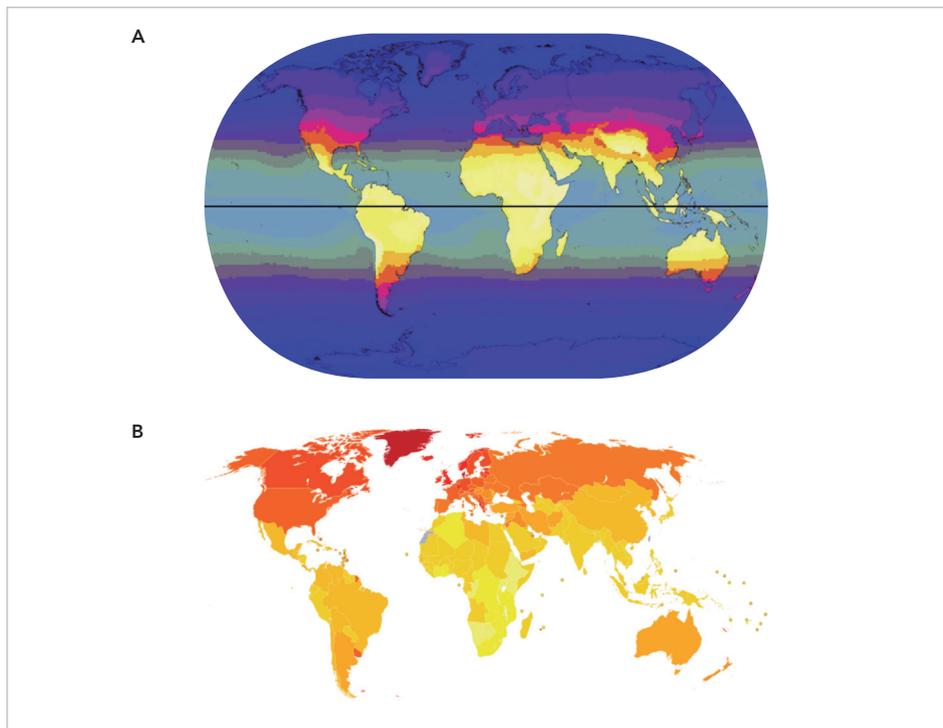


Figura 4. A: Media anual de radiación ultravioleta B (UVB) (305 nm). La intensidad está indicada por gradaciones desde el oscuro al claro (variando desde 1 a 135 Jm-2 en 10 pasos), con los océanos parcialmente en gris; B: prevalencia de la esclerosis múltiple (en rojo y naranja se indican las zonas de mayor prevalencia de la enfermedad).

estos procesos de control de la respuesta inmunitaria destacan la síntesis de prostaglandina E o la liberación de citocinas, como la IL-10, cuya síntesis está directamente estimulada por la radiación UVB y que estimula la actividad de los linfocitos T reguladores⁽¹⁾.

Es difícil distinguir los efectos de la radiación UVB *per se* de los mediados a través de la vitamina D. El hecho de que la prevalencia de la EM en regiones de latitudes altas con un alto consumo de pescado rico en vitamina D sea menor que la esperada evidencia la posible participación de la hipovitaminosis D en el desarrollo de la enfermedad. Por tanto, ninguno de los dos mecanismos excluye al otro, pudiendo actuar de manera conjunta⁽³⁾.

4.1.2. Epidemiología del efecto de la vitamina D como factor de riesgo en la esclerosis múltiple

Desde que en los años setenta se plantease el papel de la vitamina D como un importante factor de riesgo para el desarrollo de la EM, se han realizado numerosos estudios epidemiológicos y experimentales que intentan demostrar esta asociación y sus posibles implicaciones. Así, el consumo de vitamina D o de alimentos ricos en ella (aceite de hígado de bacalao o pescados grasos) durante la juventud parece ejercer un efecto protector en el riesgo posterior de EM. Se realizó un estudio longitudinal sobre muestras sanguíneas de

7 millones de militares norteamericanos, encontrando que niveles séricos de vitamina D > 40 ng/mL tenían un riesgo un 62% más bajo de desarrollar EM que aquellos que presentaban valores < 25 ng/mL⁽¹⁶⁾. Posteriormente, estos resultados fueron corroborados estudiando la cohorte sueca de embarazadas⁽¹⁷⁾, en las que se vio que niveles > 30 ng/mL conferían un efecto protector de similar magnitud. Los niveles de vitamina D al nacimiento se han relacionado con el riesgo posterior de EM, tal y como se ha detectado en el registro de recién nacidos daneses⁽¹⁸⁾: los niños con niveles < 12 ng/mL al nacimiento tendrían un riesgo especialmente alto de desarrollar EM en la edad adulta.

Más aún, parece que los niveles de vitamina D en la madre durante el embarazo influirían en el riesgo de EM en la descendencia. Así, existen dos grandes estudios, cohorte americana en 2011 y finlandesa 2016, que han abordado esta cuestión. Este último estudio se basa en la cohorte de maternidad finlandesa que comprende 800.000 mujeres registradas desde 1983. Se detectaron 1.193 mujeres con EM entre su descendencia y se compararon los niveles séricos de vitamina D maternos con los de 326 controles. Estos fueron deficientes en ambos grupos, pero significativamente inferiores en el de las madres de pacientes con EM (13,9 vs. 15,0 ng/mL; $p = 0,006$), siendo el riesgo de EM en la descendencia un 90% superior entre las madres, con niveles < 12,0 ng/mL comparadas con aquellas madres que no presentaban valores deficientes ($p = 0,006$). Estos datos sugieren que la deficiencia de vitamina D durante el embarazo incrementaría el riesgo de EM en la descendencia⁽¹⁹⁾.

4.1.3. Niveles de vitamina D en esclerosis múltiple

Ya en fases tempranas de la enfermedad, primeros brotes o incluso en el síndrome clínicamente aislado (*clinically isolated syndrome* –CIS–) (véase más abajo), es frecuente encontrar niveles de vitamina D en torno a 20 ng/mL, tal y como se ha descrito en numerosas publicaciones⁽¹⁾. La insuficiencia de vitamina D al inicio de la enfermedad se podría explicar parcialmente por anomalías en el metabolismo de la vitamina existentes en dichos pacientes. Posteriormente, en el curso de la enfermedad, los niveles séricos de vitamina D tienden a disminuir más aún. Dos factores principales se asociarían con este hecho: el fenómeno de Uhthoff (empeoramiento clínico transitorio de los síntomas preexistentes secundario al aumento de temperatura corporal) y la discapacidad progresiva, que condicionarían una menor realización de actividades al aire libre y exposición solar.

4.2. EFECTO DE LA VITAMINA D EN EL SÍNDROME CLÍNICAMENTE AISLADO

Se realizó un análisis *post hoc* de los datos obtenidos en el *BENEFIT* (ensayo fase 3, multicéntrico, prospectivo, aleatorizado, doble ciego) en el que se reclutaron 468 pacientes con diagnóstico de CIS estudiando el efecto del tratamiento precoz vs. tardío con Betaferon®. Se determinaron los niveles de vitamina D al inicio y a los 6, 12 y 24 meses. Tenían al menos un registro de dichos niveles 465 pacientes y en 303 se obtuvieron las 4 determinaciones. Se ajustaron las medidas según la estacionalidad y se hizo un seguimiento clínico y radiológico durante 5 años. Durante el periodo de seguimiento, el 81,3% de los pacientes convirtieron a EM según criterios de McDonald 2001 y el 46,6% convirtió a EM clínicamente definida (EMCD, según presencia únicamente de brotes o progresión).

El riesgo de conversión disminuyó con el aumento de los niveles séricos de vitamina D, encontrándose que los niveles medios de vitamina D a los 12 meses predecían el riesgo de conversión posterior tanto a EM-McDonald ($p = 0,02$) como a EMCD ($p = 0,05$). Los niveles más altos de vitamina D se relacionaron con una disminución de la actividad de la enfermedad y con un enlentecimiento de la progresión. Un incremento medio de 20 ng/mL en los 12 primeros meses predijo una disminución del 57% de la tasa de nuevas lesiones activas ($p < 0,001$), 57% menos de la tasa anualizada de brotes (TAB) ($p = 0,03$), 25% de disminución del incremento anual del volumen lesional en T2 ($p < 0,001$) y un -0,41% de pérdida anual de volumen cerebral ($p = 0,07$; esta última entre los meses 12 y 60). Asimismo, valores ≥ 20 ng/mL a los 12 meses predijeron una menor discapacidad durante los siguientes 4 años ($p = 0,004$).

En otro estudio sobre 30 pacientes con un primer episodio de neuritis óptica y niveles < 30 ng/mL, se evaluó el posible papel protector de la vitamina D en el riesgo de conversión a EM y en la actividad en resonancia magnética (RM)⁽²⁰⁾. Se administraron 50.000 UI semanales de vitamina D₃ durante 12 meses *vs.* placebo. El riesgo de conversión a EM se redujo un 68,4% en el grupo tratado ($p = 0,007$), con una menor proporción de lesiones corticales, yuxtacorticales y en cuerpo calloso, y una disminución de nuevas lesiones T2, de lesiones que realizaban gadolinio (Gd+) y de agujeros negros a los 12 meses. Los autores concluyen que, tras una neuritis óptica, la administración de suplementos de vitamina D₃ en aquellos pacientes con bajos niveles séricos podría retrasar la aparición de un segundo brote clínico y, por tanto, la conversión a EM.

También se ha encontrado una asociación entre los niveles de vitamina D con el volumen cerebral y nuevas lesiones en pacientes con CIS⁽²¹⁾. Cada aumento de 10 ng/mL se relacionó con un incremento de 7,8 mL en el volumen de sustancia gris ($p = 0,025$). A pesar del reducido tamaño muestral ($n = 65$), estos hallazgos parecen sugerir que los niveles elevados de vitamina D en CIS se relacionarían con un enlentecimiento de los procesos neurodegenerativos.

5. EFECTO DE LA VITAMINA D EN LA ACTIVIDAD Y LA PROGRESIÓN DE LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Son numerosos los estudios observacionales que han descrito una relación entre los niveles de vitamina D y los diferentes parámetros de actividad de la enfermedad. El estudio *EPIC* de historia natural de la enfermedad⁽¹⁹⁾ mostró una asociación entre los niveles de vitamina D y la actividad en RM. Se siguió durante 5 años una cohorte de 469 pacientes con EM o CIS. El 64% estaban siendo tratados con DMT en los 12 meses previos y hasta un 43% de los pacientes tomaban suplementos de vitamina D al finalizar el estudio. Se encontró una elevada asociación entre los niveles más bajos de vitamina D con la presencia de nuevas lesiones en T2 y con lesiones Gd+ en la RM. Cada incremento de 10 ng/mL se asoció con una disminución del 15% de nuevas lesiones en T2 y un 32% de lesiones Gd+.

En un estudio prospectivo longitudinal holandés⁽¹⁹⁾ sobre 58 pacientes se relacionó el riesgo de brotes con los niveles de vitamina D. Se describió que doblar el valor basal de vitamina D se asociaba con una disminución del 27% de dicho riesgo, siendo este más bajo entre los pacientes con niveles medios (20-40 ng/mL) o altos (> 40 ng/mL). Sin embargo, en este estudio no se analizaron los posibles efectos confundidores.

Otro estudio retrospectivo con 110 pacientes en edad pediátrica⁽¹⁾ mostró que por cada 10 ng/mL de incremento en los niveles de vitamina D el riesgo de brote disminuía un 34% (los resultados fueron ajustados por edad, sexo, raza, etnia, tiempo de duración de la enfermedad y tratamiento).

Sin embargo, los resultados son contradictorios con respecto al efecto sobre la neurodegeneración en las fases progresivas de la enfermedad. A pesar de que frecuentemente se ha comunicado la relación entre niveles bajos de vitamina D y discapacidad, debemos tener en cuenta que los pacientes con mayor afectación realizan menos actividades al aire libre, lo que puede contribuir a esta causalidad inversa. Así, en algunos de los últimos estudios publicados (con suficiente potencia estadística) no se han detectado asociaciones significativas^(22,23). No obstante, otros autores han descrito una menor pérdida de volumen cerebral en fases iniciales de la enfermedad entre los pacientes con niveles normales de vitamina D, así como un retraso en el inicio de las fases progresivas de la enfermedad⁽¹⁾.

6. FÁRMACOS MODIFICADORES DE LA ENFERMEDAD Y VITAMINA D

La actividad de la EM puede verse modificada de manera aditiva por los niveles de vitamina D y los DMT. Así, se ha estudiado esta asociación con varios de los tratamientos actualmente aprobados, aunque no hay datos sobre los fármacos introducidos más recientemente.

6.1. VITAMINA D, INTERFERÓN BETA Y ACETATO DE GLATIRÁMERO

Múltiples estudios han detectado un beneficio añadido sobre el control de la actividad en aquellos pacientes en tratamiento con interferón beta (IFN- β) que mantenían niveles más elevados de vitamina D.

Stewart *et al.* realizaron un estudio observacional sobre una cohorte australiana de 178 pacientes determinando los niveles de vitamina D cada 6 meses durante una media de 2,2 años. Encontraron que los pacientes en tratamiento con IFN- β tenían niveles más elevados de vitamina D y que por cada incremento de 4 ng/mL disminuía la tasa de brotes en un 10%. Como hallazgo significativo se detectó que el efecto protector del IFN- β sobre los brotes se produjo solo en aquellos pacientes con niveles más altos de vitamina D y que entre los pacientes con insuficiencia vitamínica existía un incremento del riesgo de brotes a pesar del tratamiento con IFN- β . Esta asociación no se detectó en los pacientes en tratamiento con acetato de glatirámero (AG).

Simpson *et al.*, en 2010, publicaron un estudio prospectivo con 145 pacientes de EM remitente-recurrente (EMRR); de ellos, 119 estaban en tratamiento con DMT de primera línea (sin diferenciar entre pacientes con IFN- β o AG). Se midieron los niveles de vitamina D semestralmente durante 3 años. Por cada incremento de 4 ng/mL se objetivó una reducción del riesgo de brotes del 12%. Los autores concluyen que alcanzar unos niveles superiores a 20 ng/mL podría reducir a la mitad el riesgo de brote. No se encontraron diferencias significativas entre los pacientes que estaban recibiendo terapia inmunomoduladora y los que no ($p = 0,11$).

Se hicieron análisis *post hoc* de los datos obtenidos en los ensayos clínicos *BENEFIT* (comentado previamente) y *BEYOND*. En este último, sobre 1.482 pacientes con EM, fase 3, prospectivo, aleatorizado, doble ciego, que comparaba 2 dosis de Betaferon® con un seguimiento a 2 años, se determinaron los niveles séricos de vitamina D al inicio y a los 6 y 12 meses. Se detectó una correlación inversamente proporcional del valor de dichos niveles con el número de nuevas lesiones activas al inicio con respecto a la última RM realizada. No se encontraron asociaciones significativas entre los niveles de vitamina D y la TAB, Expanded Disability Status Scale (EDSS) o pérdida de volumen cerebral. Sin embargo, nuevamente, se describió una disminución de la aparición de nuevas lesiones del 31% por cada incremento de 20 ng/mL ($p = 0,001$), siendo la tasa más baja de nuevas lesiones en aquellos pacientes con niveles > 40 ng/mL ($p = 0,002$)⁽¹⁹⁾.

En la cohorte *CLIMB*⁽²⁴⁾, estudio prospectivo iniciado en el año 2000, se siguieron pacientes tratados con IFN- β ($n = 96$), AG ($n = 151$) y fingolimod ($n = 77$). El objetivo primario fue “el tiempo hasta el primer evento inflamatorio” (brote y/o lesión Gd+). En el grupo de IFN- β se detectó que los niveles más elevados de vitamina D se asociaban con un mayor tiempo hasta el primer evento “combinado”, no así para el grupo de AG. En ambos tratamientos se halló una asociación significativa con la disminución del número de lesiones Gd+, aunque este efecto fue más pronunciado en el grupo IFN- β . No se encontró una asociación significativa con los brotes. Este estudio plantea la cuestión de si el efecto de la vitamina D sobre la EM puede ser modificado por el tipo de DMT.

En la actualidad está en marcha un estudio multicéntrico prospectivo (*VIDAMS*) que compara suplementación con altas dosis (5.000 UI/día) *vs.* bajas dosis (600 UI/día) de vitamina D durante 2 años en pacientes en tratamiento con AG.

6.2. VITAMINA D Y FINGOLIMOD

En el grupo de fingolimod en el estudio *CLIMB*⁽²⁴⁾ previamente descrito, se encontró que los niveles más altos de vitamina D se correlacionaban con un tiempo más largo hasta el primer evento inflamatorio y con el menor número de brotes, aunque no con la disminución de lesiones Gd+.

En el estudio *post hoc* del *FREEDOMS* (ensayo prospectivo, fase 3, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo) se clasificó a los pacientes según la toma de suplementos de vitamina D en “no consumidores” ($n = 562$), “consumidores ocasionales” ($n = 157$) y “consumidores diarios” ($n = 110$). No se detectaron diferencias en la EDSS a los 24 meses con respecto a la basal ni en la TAB entre los diferentes grupos. En la comparación entre el grupo de “consumidores diarios” *vs.* “no consumidores” se encontró un mayor porcentaje de pacientes libres de nuevas lesiones en T2 o de aumento de tamaño de las preexistentes, una disminución en la media de lesiones y en lesiones Gd+, y una reducción significativa en la pérdida de volumen cerebral con respecto a la basal a los 12 meses (que persistía a los 24 meses, aunque no alcanzó la significación estadística) a favor del grupo de “consumidores diarios”.

6.3. VITAMINA D Y NATALIZUMAB

En 2016 se publicó un estudio que revisaba las muestras sanguíneas de 170 pacientes daneses en tratamiento con natalizumab⁽²⁵⁾, recogidas durante el invierno de 2009-2010,

repetiéndose al siguiente invierno. Se recomendó el uso de suplementos de vitamina D (niveles entre 16 y 10 ng/mL se suplementaron con 2.000 UI/día; 9,9-5 ng/mL con 3.000 UI/día; y < 5 ng/mL con 4.000 UI/día) a aquellos pacientes con niveles < 20 ng/mL y se comparó la TAB previa y posterior. Se encontró un incremento en la media de los niveles séricos de vitamina D tras el suplemento de 13 ng/mL y una relación inversa entre el aumento de los niveles de vitamina D y el incremento de la TAB. Así, por cada 0,4 ng/mL se objetivó una disminución de 0,014 en la TAB ($p = 0,02$). El ajuste por tiempo de tratamiento con natalizumab no modificó estos resultados.

7. EVIDENCIA CLÍNICA ACTUAL SOBRE EL EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN

Con lo descrito anteriormente parece probada la relación entre déficit de vitamina D y riesgo de EM, así como con una peor evolución de la enfermedad. Los datos son más contradictorios en los estudios de suplementación, en parte explicado por la falta de potencia del diseño (cohorte pequeñas y breve tiempo de seguimiento) e importantes sesgos metodológicos, así como la dificultad para reclutar pacientes, ya que muchos prefieren suplementarse *motu proprio*.

En un estudio observacional, no controlado, sobre 156 pacientes con EMRR, en tratamiento con IFN- β o AG y unos niveles iniciales < 40 ng/mL, se suplementó con una media de 3.010 UI/día de vitamina D₃⁽¹⁾. Tras la misma se objetivó un aumento medio de los niveles séricos de 19,6 a 44 ng/mL. Se encontró una fuerte relación inversamente proporcional entre la incidencia de brotes y los niveles de vitamina D ($p < 0,0001$). Así, en el modelo multivariante (ajustado por edad, duración de la enfermedad y DMT) cada 4 ng/mL de incremento se asoció con una reducción de la tasa de brotes del 13,7%. Más allá de los 44 ng/mL se observó un efecto *plateau* tras el cual niveles séricos superiores no se correlacionaban con un mayor descenso de la tasa de brotes.

Se realizó un metaanálisis en 2013⁽²⁶⁾ en el que se incluyeron 5 estudios de suplementación con un total de 129 pacientes de EM tratados con altas dosis de vitamina D *vs.* 125 pacientes de EM controles (35 con dosis bajas y 90 con placebo). En 3 de ellos se administró vitamina D₃, en uno vitamina D₂ y en el otro calcitriol, con una duración de entre 26 y 96 semanas. No encontraron diferencias significativas en el riesgo relativo de brotes entre ambos grupos. Sin embargo, señalan que estos estudios están limitados por múltiples consideraciones metodológicas como el pequeño tamaño muestral, las diferentes formulaciones de vitamina utilizadas y el tiempo de duración de los tratamientos.

Tampoco se alcanzó la significación en el ensayo sobre CIS y vitamina D (placebo, 5.000 o 10.000 UI/día) publicado en 2017 que comprendía 39 controles sanos y 32 pacientes, en el que se registró la proporción de células T CD4 proinflamatorias, como objetivo principal, y los datos clínicos (brotes y cambios en la EDSS) y radiológicos (nuevas lesiones en T2 o Gd+), como objetivos secundarios.

En 2016, Sotirchos *et al.*⁽²⁷⁾ publicaron un estudio piloto unicéntrico sobre 40 pacientes EMRR, doble ciego, aleatorizándolos a 800 *vs.* 10.400 UI/día de colecalciferol durante 6 meses. Concluyen que la suplementación con 10.400 UI/día es segura y tolerable en pacientes con EM y se relaciona con múltiples efectos inmunomoduladores pleiotrópicos *in vivo*.

En un estudio de 2017, Micklea *et al.*⁽²⁸⁾ hicieron un análisis retrospectivo sobre 40 pacientes antes y durante la suplementación oral con 20.000 UI/semana de vitamina D. Se midieron los niveles séricos de la vitamina y se obtuvieron los datos de radiación UVB, así como la tasa de brotes anual y trimestral, encontrándose un incremento de los niveles séricos de 20 ng/mL, con desaparición de los cambios en relación con la estacionalidad. Se detectó una disminución de la TAB del 50%, sobre todo en relación con la reducción de brotes entre los meses de invierno y primavera, cuando los niveles de vitamina D en los pacientes no suplementados son más bajos.

8. CONSIDERACIONES SOBRE LA SUPLEMENTACIÓN EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

La insuficiencia/deficiencia de vitamina D constituye una aparente epidemia a nivel mundial. Así, se ha descrito que el 88% de la población tiene concentraciones plasmáticas de 25-OH-D < 30 ng/mL, un 37% < 20 ng/mL y hasta un 7% < 10 ng/mL. En España, esta situación es muy similar, encontrando niveles < 20 ng/mL en hasta el 40% de la población menor de 65 años. En la **Tabla 1** se muestran las diferentes causas de hipovitaminosis D⁽²⁹⁾.

8.1. NIVELES SÉRICOS

En la actualidad existe controversia sobre cuáles serían los niveles séricos adecuados y/o tóxicos de vitamina D. Hasta tiempos recientes, las recomendaciones de las sociedades científicas solo tenían en cuenta los efectos sobre el metabolismo óseo. Es en los últimos años cuando el interés sobre las acciones extraesqueléticas ha ido ganando importancia ante las evidencias científicas publicadas acerca de las propiedades inmunomoduladoras de esta vitamina⁽¹⁹⁾.

Se ha establecido que concentraciones séricas de 20 ng/mL o superiores serían suficientes para una adecuada salud ósea, pero es posible que sean necesarios valores superiores para obtener resultados favorables en otros objetivos de salud. Tampoco existe unanimidad sobre cuáles son los valores máximos recomendables de vitamina D. No se han detectado efectos tóxicos con niveles < 100 ng/mL, por lo que algunos autores han propuesto concentraciones máximas recomendables de 60-70 ng/mL. Sin embargo, existe un debate abierto acerca de si niveles inferiores de vitamina D (> 50-60 ng/mL) podrían asociarse con riesgo de muerte cardiovascular o de cualquier otra causa⁽²⁹⁾. La Endocrine Society toma en consideración tanto los efectos óseos como los extraóseos de la vitamina D para sus recomendaciones. Así, concluye que niveles de 20 ng/mL no serían suficientes, estableciendo como niveles “ideales” 40-60 ng/mL⁽¹⁹⁾. En un documento de consenso reciente, la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN) recomienda mantener niveles entre 30 y 50 ng/mL para conseguir los beneficios de salud que aporta la vitamina D (**Tabla 2**)⁽²⁹⁾.

8.2. INTOXICACIÓN

La intoxicación por vitamina D se caracteriza por hipercalcemia, hipercalciuria e hiperfosfate-mia y, a largo plazo, puede producir calcificación vascular y de tejidos blandos y nefrolitiasis.

Tabla 1. Mecanismos patogénicos y causas de carencia de vitamina D

Extrínseca
Ingesta inadecuada
Escasa exposición a la luz solar
Uso de cremas con filtro de radiaciones ultravioletas (factor de protección > 8)
Hiperpigmentación cutánea
Intrínseca
Edad avanzada (disminución de la síntesis cutánea de vitamina D)
Malabsorción:
Gastrectomía (total, parcial, <i>bypass</i> gástrico)
Enfermedades intestinales (por ejemplo, enfermedad celiaca, enfermedad de Crohn)
Cirrosis biliar primaria
Insuficiencia pancreática (por ejemplo, fibrosis quística)
Tratamiento con colestiramina
Colostasis crónicas
Incremento del catabolismo de la vitamina D:
Anticonvulsivantes
Antirretrovirales para virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)
Tuberculostáticos
Hiperparatiroidismo
Enfermedad ósea de Paget
Enfermedades granulomatosas crónicas
Algunos linfomas
Obesidad (disminución de la biodisponibilidad de vitamina D)
Deficiencia de 25-hidroxilación hepática:
Hepatopatía crónica grave/Cirrosis hepática
Deficiencia de 1α-hidroxilación renal:
Insuficiencia renal crónica
Raquitismo dependiente de vitamina D de tipo I
Hipoparatiroidismo
Pseudohipoparatiroidismo
Pérdida renal de 25-hidroxivitamina D
Síndrome nefrótico
Anomalías del receptor de 1,25-OH-vitamina D
Raquitismo dependiente de vitamina D de tipo II

Adaptado de Varsavsky et al. En el documento de consenso de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN)

Tabla 2. Definición del estado de vitamina D –como medida de los niveles en sangre de 25(OH)D– e ingesta diaria recomendada de vitamina D por: Institute of Medicine (IOM), Endocrine Society (ES) y la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición (SEEN)

	IOM	ES	SEEN
Estado de Vitamina D			
Deficiente	–	≤ 20 ng/mL	–
Insuficiente	–	21-29 ng/mL	–
Suficiente	20 ng/mL	≥ 30 ng/mL	–
Ideal	–	40-60 ng/mL	30-50 ng/mL
Considerado seguro	–	≤ 100 ng/mL	–
Recomendaciones de consumo diario de vitamina D (límites superiores)			
Bebés (< 1 año)	400 UI (1.000-1.500 UI)	400-1.000 UI (2.000 UI)	400 UI (1.500 UI)
Niños	600 UI (2.500-3.000 UI)	600-1.000 UI (4.000 UI)	600 UI (3.000 UI)
Adultos	600 UI (4.000 UI) 800 UI (si > 70 años)	1.500-2.000 UI (10.000 UI)	600 UI (4.000 UI) 800 UI (4.000 UI)

Esta se puede producir en personas con niveles séricos ≥ 150 ng/mL o con ingestas superiores a 10.000 UI/día o cuando se combina un consumo de altas dosis de vitamina D con altas dosis de calcio. A pesar de ello, existen varios estudios en pacientes con EM que no han detectado efectos secundarios relevantes con la administración de dosis > 10.000 UI/día, incluso con suplementaciones de calcio⁽¹⁹⁾.

8.3. SUPLEMENTACIÓN

Se recomienda usar vitamina D₃ (colecalfiferol) sobre vitamina D₂ (ergocalciferol), ya que es la forma más potente de dicha vitamina en los primates.

Las dosis recomendadas por la Endocrine Society, 1.500-2.000 UI/día, son bien toleradas por la mayoría de los pacientes, debiendo tener cuidado especial en nefropatas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades granulomatosas crónicas (como sarcoidosis o tuberculosis) o infecciones fúngicas crónicas⁽¹⁹⁾. La SEEN recomienda dosis diarias de 600 UI, considerando como nivel superior de ingesta tolerable 4.000 UI/día⁽²⁹⁾.

En España disponemos de diferentes preparados para la suplementación de vitamina D: vitamina D₃ (colecalfiferol), 25-OH-D₃ (calcifediol), 1,25-(OH)₂-D₃ (calcitriol) y 1α-OH-D₃ (alfalcaldiol). Debido a su menor vida media y al mayor riesgo de hipercalcemia, no se recomienda el uso habitual del calcitriol o del alfalcaldiol. Con respecto al colecalfiferol y al calcifediol, debemos tener en cuenta que no son equipotentes, siendo este último más hidrofílico, con una vida media más corta y mayor rapidez de acción, y de 3 a 6 veces más potente a la hora de aumentar las concentraciones séricas de 25-OH-D₃. Por tanto, la dosis a utilizar dependerá de la causa y de la gravedad del déficit, así como de la formulación de vitamina D utilizada. En personas con capacidad de absorción normal, con cada 100 UI de vitamina D₃ se aumentan las concentraciones séricas de 25-OH-D entre 0,7 y 1 ng/mL. Los estudios realizados para hallar el régimen

más adecuado de suplementación no han encontrado diferencias entre posologías diarias, semanales, mensuales, bimensuales e incluso trimestrales, debiendo evitar las pautas de administración anual con dosis altas (300.000-500.000 UI) por el aumento del riesgo de caídas y fracturas observado. Se recomienda realizar monitorización del tratamiento a los 3-4 meses de iniciado y, una vez alcanzadas las concentraciones séricas deseadas, continuar con dosis de mantenimiento para prevenir un nuevo descenso en las concentraciones de 25-OH-D y efectuar controles semestrales (ya que no existen depósitos permanentes en el organismo, produciéndose la desaparición progresiva en 6-8 semanas tras una ingesta única o exposición solar aislada)^(1,29).

Teniendo en cuenta la evidencia científica y las recomendaciones de las organizaciones de endocrinología, parece razonable realizar la suplementación con dosis no superiores a 2.000-4.000 UI/día, intentando mantener niveles séricos en torno a 40-60 ng/mL, para lo cual, además, debemos considerar las variaciones de la vitamina D debidas a la estacionalidad.

9. CONCLUSIONES

- El déficit de vitamina D en edades tempranas de la vida, incluso intraútero, parece ser un factor de riesgo para el posterior desarrollo de una EM.
 - Se ha relacionado la presencia de niveles bajos con un mayor riesgo de conversión de CIS a EM o una mayor actividad clínica y radiológica, y progresión/discapacidad de la enfermedad.
 - La exposición solar a través de la radiación UVB desencadena procesos inmunomoduladores independientes de la vitamina D, siendo un importante factor de confusión en los ensayos clínicos por la dificultad para distinguir entre ambas acciones.
 - El uso combinado de vitamina D con algunos DMT (IFN- β , fingolimod y natalizumab) podría conferir un beneficio añadido aumentando la efectividad sobre la actividad clínica y radiológica de la enfermedad. Esta potenciación no se ha detectado con el AG.
 - Existe una mayor discordancia en los resultados de los estudios de suplementación una vez ha debutado la enfermedad, pero parece que niveles elevados (40-50 ng/mL) confieren un efecto protector sobre la actividad y el riesgo de conversión.
 - Es precisa la realización de estudios bien diseñados y con la potencia suficiente para poder intentar confirmar el posible beneficio de la suplementación, así como las dosis y los niveles séricos óptimos en estos pacientes.
-

BIBLIOGRAFÍA

1. Pierrot-Deseilligny C, Souberbielle J-C. Vitamin D and multiple sclerosis: an update. *Mult Scler Relat Disord*. 2017;14:35-45.
2. Bikle DD. Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chem Biol*. 2014;21:319-29.
3. Ascherio A, Munger KL, Simon KC. Vitamin D and multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2010;9:599-612.
4. Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol*. 2010;10:482-96.
5. Smolders J, Damoiseaux J, Menheere P, Hupperts R. Vitamin D as an immune modulator in multiple sclerosis, a review. *J Neuroimmunol*. 2008;194:7-17.
6. Shahijanjan F, Parnell GP, McKay FC, Gatt PN, Shojoei M, O'Connor KS, et al. The CYP27B1 variant associated with an increased risk of autoimmune disease is underexpressed in tolerizing dendritic cells. *Hum Mol Genet*. 2014;23:1425-34.
7. Hallau J, Hamann L, Schumann RR, Worm M, Heine G. A Promoter Polymorphism of the Vitamin D Metabolism Gene Cyp24a1 is Associated with Severe Atopic Dermatitis in Adults. *Acta Derm Venereol*. 2016;96:169-72.
8. Salzer J, Nyström M, Hallmans G, Stenlund H, Wadell G, Sundström P. Epstein-Barr virus antibodies and vitamin D in prospective multiple sclerosis biobank samples. *Mult Scler*. 2013;19:1587-91.
9. Nejati A, Shoja Z, Shahmahmoodi S, Tafakhori A, Mollaei-Kandelous Y, Rezaei F, et al. EBV and vitamin D status in relapsing-remitting multiple sclerosis patients with a unique cytokine signature. *Med Microbiol Immunol (Berl)*. 2016;205:143-54.
10. Røsjø E, Lossius A, Abdelmagid N, Lindstrøm JC, Kampman MT, Jørgensen L, et al. Effect of high-dose vitamin D3 supplementation on antibody responses against Epstein-Barr virus in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler*. 2017;23:395-402.
11. Hayes CE, Donald Acheson E. A unifying multiple sclerosis etiology linking virus infection, sunlight, and vitamin D, through viral interleukin-10. *Med Hypotheses*. 2008;71:85-90.
12. Ricigliano VAG, Handel AE, Sandve GK, Annibali V, Ristori G, Mechelli R, et al. EBNA2 Binds to Genomic Intervals Associated with Multiple Sclerosis and Overlaps with Vitamin D Receptor Occupancy. *PLoS One*. 2015;10:e0119605.
13. Yenamandra SP, Hellman U, Kempkes B, Darekar SD, Petermann S, Sculley T, et al. Epstein-Barr virus encoded EBNA-3 binds to vitamin D receptor and blocks activation of its target genes. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67:4249-56.
14. Mostafa A, Jalilvand S, Shoja Z, Nejati A, Shahmahmoodi S, Sahraian MA, et al. Multiple sclerosis-associated retrovirus, Epstein-Barr virus, and vitamin D status in patients with relapsing remitting multiple sclerosis. *J Med Virol*. 2017;89:1309-13.
15. Wang J, Thingholm LB, Skieceviciene J, Rausch P, Kummen M, Hov JR, et al. Genome-wide association analysis identifies variation in vitamin D receptor and other host factors influencing the gut microbiota. *Nat Genet*. 2016;48:1396-406.
16. Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *JAMA*. 2006;296:2832-8.
17. Salzer J, Hallmans G, Nyström M, Stenlund H, Wadell G, Sundström P. Vitamin D as a protective factor in multiple sclerosis. *Neurology*. 2012;79:2140-5.

18. Nielsen NM, Munger KL, Koch-Henriksen N, Hougaard DM, Magyari M, Jørgensen KT, et al. Neonatal vitamin D status and risk of multiple sclerosis: a population-based case-control study. *Neurology*. 2017;88:44-51.
19. Sintzel MB, Rametta M, Reder AT. Vitamin D and Multiple Sclerosis: a Comprehensive Review. *Neurol Ther*. 2017 Dec 14 [Epub ahead of print].
20. Derakhshandi H, Etemadifar M, Feizi A, Abtahi SH, Minagar A, Abtahi MA, et al. Preventive effect of vitamin D3 supplementation on conversion of optic neuritis to clinically definite multiple sclerosis: a double blind, randomized, placebo-controlled pilot clinical trial. *Acta Neurol Belg*. 2013;113:257-63.
21. Mowry EM, Pelletier D, Gao Z, Howell MD, Zamvil SS, Waubant E. Vitamin D in clinically isolated syndrome: evidence for possible neuroprotection. *Eur J Neurol*. 2016;23:327-32.
22. Muris AH, Smolders J, Rolf L, Klinkenberg LJ, van der Linden N, Meex S, et al. Vitamin D Status Does Not Affect Disability Progression of Patients with Multiple Sclerosis over Three Year Follow-Up. *PLoS One*. 2016;11:e0156122.
23. University of California, San Francisco MS-EPIC Team: Cree BA, Gourraud PA, Oksenberg JR, Bevan C, et al. Long-term evolution of multiple sclerosis disability in the treatment era. *Ann Neurol*. 2016;80:499-510.
24. Rotstein DL, Healy BC, Malik MT, Carruthers RL, Musallam AJ, Kivisakk P, et al. Effect of vitamin D on MS activity by disease-modifying therapy class. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2015;2:e167.
25. Laursen JH, Søndergaard HB, Sørensen PS, Sellebjerg F, Oturai AB. Vitamin D supplementation reduces relapse rate in relapsing-remitting multiple sclerosis patients treated with natalizumab. *Mult Scler Relat Disord*. 2016;10:169-73.
26. James E, Dobson R, Kuhle J, Baker D, Giovannoni G, Ramagopalan SV. The effect of vitamin D-related interventions on multiple sclerosis relapses: a meta-analysis. *Mult Scler*. 2013;19:1571-9.
27. Sotirchos ES, Bhargava P, Eckstein C, Van Haren K, Baynes M, Ntranos A, et al. Safety and immunologic effects of high- vs low-dose cholecalciferol in multiple sclerosis. *Neurology*. 2016;86:382-90.
28. Miclea A, Miclea M, Pistor M, Hoepner A, Chan A, Hoepner R. Vitamin D supplementation differentially affects seasonal multiple sclerosis disease activity. *Brain Behav*. 2017;7:e00761.
29. Varsavsky M, Rozas Moreno P, Becerra Fernández A, Luque Fernández I, Quesada Gómez JM, Ávila Rubio V, et al. Recommended vitamin D levels in the general population. *Endocrinol Diabetes Nutr*. 2017;64 Suppl 1:7-14.

VITAMINA D Y OTROS FACTORES AMBIENTALES

2.2. FACTORES AMBIENTALES

Autora | **Montserrat González Platas**¹

Editores | **Óscar Fernández y Fernández**²,
Juan Antonio García Merino³

¹ Departamento de Neurología. Hospital Universitario de Canarias.
San Cristóbal de la Laguna, Tenerife

² Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA).
Hospital Regional Universitario de Málaga

³ Unidad de Neuroinmunología. Servicio de Neurología.
Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda. Madrid

1. Introducción

2. Factores dietéticos

2.1. Aportes de grasas en la dieta

2.1.1. Ácidos grasos saturados de cadena media-larga

2.1.2. Ácidos grasos saturados de cadena corta

2.1.3. Ácidos grasos poliinsaturados

2.2. Ingestas de sal (ClNa)

2.3. Sobrepeso y obesidad

2.4. Otros: alcohol, cafeína, vitamina B₁₂ y antioxidantes

2.4.1. Alcohol

2.4.2. Cafeína

2.4.3. Vitamina B₁₂

2.4.4. Antioxidantes

3. Tabaco

4. Trabajo nocturno

5. Recomendaciones

6. Conclusiones

Bibliografía

RESUMEN

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad de etiología desconocida en la que influyen factores genéticos, infecciosos, dietéticos y ambientales. Es difícil atribuir una relación causal, ya que algunos factores están íntimamente relacionados y condicionan efectos potenciadores o protectores cuando se manifiestan.

Los factores ambientales ejercen su influencia en etapas tempranas (adolescencia), antes de que aparezcan los primeros síntomas de la enfermedad.

Los factores dietéticos son los más difíciles de estudiar por la gran variabilidad que conllevan (tipos de alimentos, cantidades, preparación, suplementación...) y se propone el consumo bajo en grasa animal, pescados, frutas, verduras y cereales, con un contenido calórico adecuado para conseguir una dieta protectora frente a la EM, tanto por los nutrientes que aporta (grasas poliinsaturadas, antioxidantes, vitaminas) como por la modificación de la microbiota intestinal (ácido butírico).

Hay que señalar que el consumo elevado de sal e ingestas de alcohol moderadas-severas tienen un efecto deletéreo en la evolución de la enfermedad.

Además, la obesidad en la adolescencia actúa como situación de riesgo para el desarrollo de la enfermedad, con una susceptibilidad modificada por la raza y los genes. En esta condición confluyen: consumo excesivo de calorías, mayor aporte de grasas saturadas, situación sedentaria, así como influencias hormonales (leptina, cortisol, estradiol) que marcan mayor susceptibilidad en mujeres.

La exposición al humo del tabaco tanto pasiva como activa también produce un efecto negativo, fundamentalmente por daño de las sustancias alquitranadas presentes en el humo en la barrera hematoencefálica (BHE), condicionando un aumento de la permeabilidad de esta y un aumento de los procesos oxidativos en la matriz extracelular del sistema nervioso central (SNC), ya que la nicotina tiene un efecto dual: por un lado, aumenta la angiogénesis y la permeabilidad de la BHE; y, por otro, actúa como estimulante del SNC a través de la vía colinérgica.

El estilo de vida, la exposición solar, el ejercicio físico o realizar trabajos a turnos con nocturnidad también están implicados en favorecer la aparición de EM. Implementar medidas correctoras a través de campañas que promuevan hábitos saludables desde la infancia con el fin de disminuir la incidencia de esta enfermedad es imprescindible.

1. INTRODUCCIÓN

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad degenerativa, crónica, caracterizada por episodios inflamatorios recurrentes en el sistema nervioso central (SNC) desencadenados por una reacción autoinmunitaria cuya fisiopatología está caracterizada por inflamación perivascular, rotura de la barrera hematoencefálica (BHE), destrucción de la mielina y daño de los axones. La etiología es desconocida, con interacción entre factores genéticos y ambientales que actúan antes de que aparezca el primer signo clínico de la enfermedad (**Figura 1**).

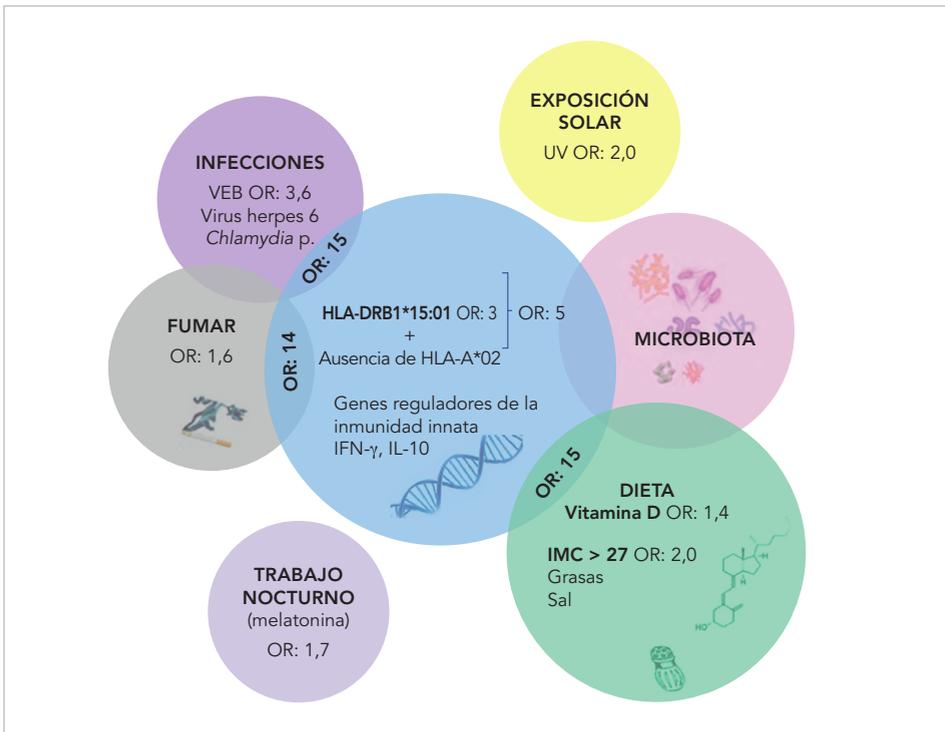


Figura 1. Factores de riesgo de la esclerosis múltiple (EM). HLA: antígenos leucocitarios humanos; IL: interleucinas; IMC: índice de masa corporal; IFN: interferón; OR: riesgo relativo; UV: rayos ultravioletas; VEB: virus de Epstein-Barr.

La posible relación causal surge de los estudios epidemiológicos. Las primeras observaciones sugieren una distribución de prevalencia de la EM según la latitud, siendo alta en zonas de latitudes alejadas del ecuador, con un gradiente norte-sur en el hemisferio norte; este factor se va perfilando en los estudios siguientes implicado otros aspectos interrelacionados como el clima, la exposición solar, niveles de vitamina D, distribución geográfica del haplotipo HLA-DRB1*15:01 en caucásicos y con las migraciones europeas^(1,2).

Destacamos como factores de riesgo más importantes de la EM: serología positiva para el virus de Epstein-Barr (VEB) (OR: 3,6), obesidad en la adolescencia (OR: 2),

exposición solar insuficiente (OR: 2), trabajo nocturno (OR: 1,7), exposición al humo de tabaco (OR: 1,6) y niveles bajos de vitamina D (1,4), siendo responsables del 60% del riesgo de la enfermedad. Otros factores como el consumo de alcohol (OR: 0,6), caféina (OR: 0,7) y el consumo de grasas tienen menor repercusión en la enfermedad⁽³⁻⁵⁾.

Los factores ambientales tienen un efecto crucial de acción en los primeros momentos de la adolescencia y en adultos jóvenes, años antes de que aparezcan los primeros síntomas (fenómeno observado en las migraciones) y es en esta etapa (la niñez tardía y la adolescencia) cuando deberían implementarse medidas correctoras para conseguir disminuir la incidencia de la EM. Estas medidas no solo se deben centrar en factores individuales, sino en la actuación conjunta, teniendo en cuenta el papel potenciador o protector que tienen algunos factores sobre la enfermedad⁽⁵⁾ (Tabla 1).

Tabla 1. Influencia de factores ambientales y su interacción como estilo de vida en esclerosis múltiple (EM)

Factor	OR	Interacción del gen HLA	Combinación OR (factor no genético + HLA alelo)	Efectos durante adolescencia	Sistema inmune implicado	Nivel de evidencia
Tabaco	~1,6	Sí	14	No	Sí	+++
VEB	~3,6	Sí	~15	Sí	Sí	+++
Vitamina D < 50 nM	~1,4	No	No aplicable	Probablemente	Sí	+++
Obesidad adolescente (IMC > 27 a la edad de 20 años)	~2	Sí	~15	Sí	Sí	+++
CMV infecciones (seropositividad)	0,7	No	No aplicable	Desconocido	Sí	++
Trabajo nocturno	~1,7	No	No aplicable	Sí	Sí	++
Baja exposición al sol	~2	No	No aplicable	Probablemente	Sí	++
Mononucleosis infecciosa	~2	Sí	7	Sí	Sí	++
Fumador pasivo	~1,3	Sí	6	No	Sí	+
Exposición a solventes orgánicos	~1,5	Desconocido	Desconocido	Desconocido	Desconocido	+
Tabaco oral/ Nicotina	0,5	No	No aplicable	Desconocido	Sí	+
Alcohol	~0,6	No	No aplicable	Desconocido	Sí	+
Café	~0,7	No	No aplicable	Desconocido	Sí	+

Traducida de Olsson 2017 con autorización del autor⁽³⁾

+++ : alto nivel de evidencia. Extraída de grandes estudios prospectivos o, si es un caso-control, la observación está respaldada por estudios de aleatorización mendelianos; ++: observaciones de casos y controles, si se replican y/o son compatibles con métodos independientes; +: observaciones no replicadas (incluidas para permitir más observaciones)

CMV: citomegalovirus; HLA: antígeno leucocitario humano; OR: odds ratio (riesgo relativo); VEB: virus de Epstein-Barr

De los factores genéticos, son las moléculas de clase HLA clase 2 (variante HLA-DRB1*15:01) y clase 1 (HLA A*02) las que han mostrado una mayor relación con la enfermedad. La presencia de HLA-DRB1*15 implica un riesgo relativo de 3,6, pero si se combina con la ausencia de HLA-A*02 (factor protector), se incrementa el riesgo relativo de padecer la enfermedad hasta 5. La interacción de estos factores genéticos se potencia cuando se combinan, en población caucásica, con fumar (OR: 14) o con serología positiva al VEB (OR: 15). Esto sugiere que los factores de riesgo deben ser abordados en conjunto y no de forma aislada⁽⁵⁾.

Una vez identificados posibles factores ambientales, estos son sometidos a análisis más detallados, planteando estudios experimentales *in vitro* y en animales con el objetivo de ahondar más en la patogenia de la enfermedad. En este sentido, los estudios de intervención en animales demuestran efectos moderados en las fases inflamatorias y más modestos sobre la neurodegeneración.

La interacción entre los distintos factores hace muy complejo dicho análisis. Por ejemplo, ingestas elevadas en grasa, sobre todo saturadas, inciden en producir aumento de peso; si este es importante, sobre todo en la adolescencia, constituye por sí mismo otro factor desencadenante de EM.

El siguiente paso es probar en población susceptible de riesgo cómo estos factores (tabaco, VEB, vitamina D, obesidad, etc.) desencadenan la enfermedad, sentando las bases para intervenir en poblaciones de riesgo con el fin de disminuir su incidencia.

Los estudios de intervención en población con EM muestran resultados contradictorios difíciles de comparar, debido al diseño insuficiente de los estudios: pequeño tamaño de la muestra, ausencia de un adecuado grupo de control, comorbilidades presentes, factores de confusión no controlados, tiempo insuficiente de seguimiento del estudio para ver el efecto deseado, etc.⁽⁶⁾

Muchos de estos factores medioambientales (dieta, tabaco, niveles bajos de vitamina D) influyen también en el desarrollo de la enfermedad, aumentando su actividad o progresión, siendo este efecto el más difícil de valorar, pero que podría explicar la diversidad en la evolución de la EM. En este sentido, la enfermedad vascular asociada a la EM se ha identificado como causa de incremento de mortalidad, provocar un retraso en el diagnóstico de la enfermedad, producir mayor discapacidad y aumentar por 3 el riesgo de ingresos hospitalarios a lo largo de la vida⁽⁵⁾.

Se debe recomendar la supresión de factores insalubres (tabaco, sobrepeso, obesidad, dislipemia, etc.) pues, si bien pueden no tener efecto en la EM, su presencia favorece la aparición de comorbilidades. La modificación del estilo de vida es tan relevante como el tratamiento modificador de la enfermedad (TME) para conseguir un mejor estatus del paciente y calidad de vida.

2. FACTORES DIETÉTICOS

La dieta puede ejercer su efecto directamente sobre diversos elementos celulares a través de sus nutrientes, puede modificar cambios en el microbioma intestinal⁽⁷⁾ o actuar en comorbilidades (diabetes, hipertensión, dislipemia, etc.) modificando el daño vascular⁽⁸⁾.

El análisis de la dieta de un individuo es muy difícil de evaluar, incurren muchos factores difíciles de analizar. No solo nos referimos a los alimentos, nutrientes, cantidades,

asociaciones, sino también a su modificación con la preparación, cocción y conservación. Para aproximarnos al conocimiento de los hábitos dietéticos de una población, utilizamos encuestas (alimentos consumidos, frecuencia y cantidades –raciones–), en ocasiones utilizamos diarios de alimentos ingeridos (dieta de un individuo), análisis de nutrientes en sangre o un combinado de ellos. La cantidad de sesgos en estos estudios es elevada y la metodología para minimizarlos es muy difícil.

Se sabe que ingestas elevadas en calorías, en carnes (grasas saturadas), bajas en pescado (grasas poliinsaturadas) y ricas en sal (dieta occidental)⁽⁹⁾ correlacionan un riesgo elevado de EM. Quien no consumió carne o lácteos tuvo puntuaciones significativamente más altas en salud física y salud mental. Dietas con fruta y verduras frescas, y pescados están asociadas a disminución del riesgo. Los pacientes pediátricos con EM con dieta rica en vegetales tienen menor proporción de brotes en su desarrollo⁽⁷⁾.

Los mecanismos por los que las dietas influyen en la respuesta inmunológica son variados, desde nutrientes específicos que promueven rutas metabólicas concretas, cambio de la proporción y tipo de microbiota (liberación de fermentos y sustancias como el butirferol), activación o inhibición del tejido linfóide asociado a las mucosas (MALT); también se han identificado fenómenos de mimetismo molecular entre la mielina y algunas proteínas de la dieta, como la butirofilina (proteína de la leche de vaca), que induce anticuerpos que reaccionan con la glicoproteína mielínica de los oligodendrocitos (MOG). La dieta rica en vegetales regula a la baja las moléculas proinflamatorias y restaura o mantiene saludable la microbiota^(7,10).

La desnutrición y caquexia que ocurre en situaciones de afectación del troncoencefalo y cerebelo, la aparición de disfagia, infecciones respiratorias de repetición por microaspiraciones, dificultad física para comer o beber, mala visión, falta de apetito o alteración cognitiva empeoran el pronóstico vital del paciente aumentando su morbilidad (escaras, aumento de la espasticidad, etc.)^(10,11).

2.1. APORTES DE GRASAS EN LA DIETA

Uno de los factores identificados es la relación de la ingesta de grasas con el desarrollo de EM, no solo por el tipo de grasa (saturada/insaturada) sino por la mezcla y/o proporción y por la cantidad. Las grasas saturadas tienen un efecto inflamatorio a través de la activación de los receptores *Toll-like 4*⁽⁷⁾ y producen daño vascular (obstrucción de capilares y disminución de la elasticidad de la pared capilar)⁽⁵⁾. Si las grasas se ingieren en cantidades superiores a las necesidades, se induce el depósito de estas en el tejido graso conduciendo al sobrepeso y la obesidad.

Los fitoesteroles pueden reducir el contenido plasmático de colesterol, los polifenoles y carotenoides tienen un efecto antioxidante restaurando el equilibrio oxidativo en EM, reduciendo la desmielinización y el daño axonal⁽⁸⁾.

Analizaremos a continuación de forma más detallada algunos ácidos grasos.

2.1.1. Ácidos grasos saturados de cadena media-larga

- **Ácido láurico** (12 C): promueve la diferenciación de células T CD4+ hacia células Th1-Th17 produciendo citocinas proinflamatorias: interferón gamma (IFN- γ) e interleucina 17 (IL-17) (**Figura 2**). El efecto de ácido láurico hacia la polarización de Th17 está directamente mediado por la activación de p38-MAPK en linfocitos T CD4+ y no ocurre

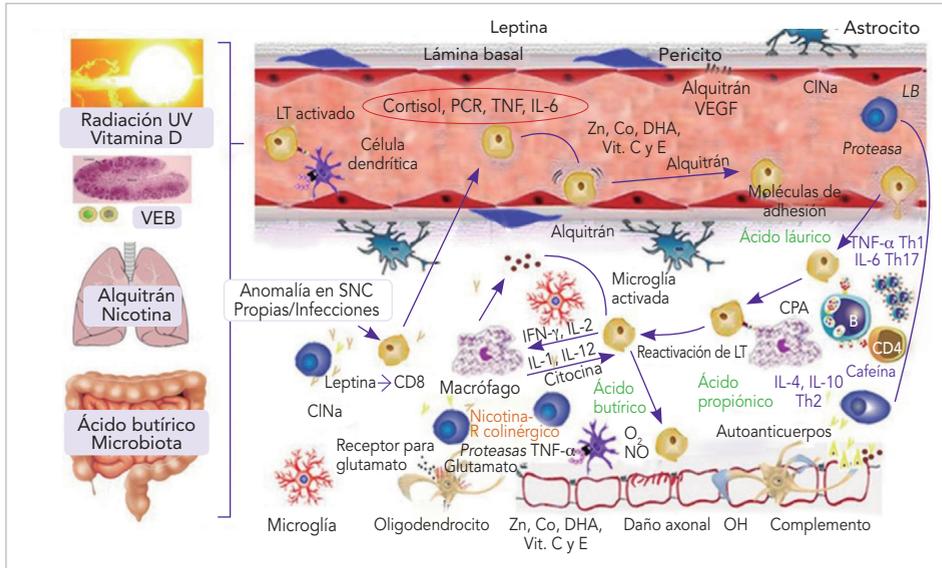


Figura 2. Factores de riesgo y fisiopatología de la esclerosis múltiple (EM). ClNa: cloruro de sodio; Co: cobre; CPA: células presentadoras de antígeno; DHA: ácido docosahexaenoico; IFN: interferón; IL: interleucinas; LT: linfocitos T; NO: óxido nítrico; O₂: oxígeno; OH: alcohol; PCR: proteína C reactiva; SNC: sistema nervioso central; TNF-α: factor de necrosis tumoral alfa; UV: rayos ultravioletas; VEB: virus de Epstein-Barr; Vit.: vitamina; Zn: zinc.

a través de células dendríticas (que son células presentadoras de antígeno). Suprime la diferenciación de las células T reguladoras (Treg) y disminuye la expresión de IL-10.

La fosforilación de p38 en los macrófagos induce RNAm para incrementar la producción de IFN-α e IL-1 beta aumentando la respuesta Th17. El ácido láurico aumenta la autoinmunidad en el SNC, produciendo mayores infiltraciones en células Th1 y Th17. La diferenciación de células T CD4 en células Th1 y Th17 fue significativamente mayor tras la adición de ácidos grasos de cadena larga, aumentando concentraciones en el intestino delgado^(12,13).

2.1.2. Ácidos grasos saturados de cadena corta

- **Ácido propiónico** (3 C): se encuentra en crustáceos y se utiliza en la producción de pan y bollería industrial. Este ácido aumenta la función de las células Treg y la liberación de IL-10 a través de la acción de la lipina-2 (de macrófagos y células presentadoras de antígeno). Tiene efectos antiinflamatorios⁽¹²⁾.

- **Ácido butírico** (4 C): produce disminución de óxido nítrico, IL-6 e IL-12 p40 e IFN-α. En las células presentadoras de antígeno, aumento en IL-10 e IL-23, reduce la adherencia de los leucocitos al endotelio vascular, induce la apoptosis de leucocitos e inhibe la producción del IFN-γ y activa la transcripción-1 (Figura 2). El intestino es la principal fuente de ácidos grasos de cadena corta a través de la fermentación de la fibra vegetal por la microbiota^(9,12).

2.1.3. Ácidos grasos poliinsaturados (PUFA)

Los omega 3 y los omega 6 tienen propiedades inmunomoduladoras, antiinflamatorias

y anticoagulantes; también forman parte de las membranas de mielina. Si bien parece existir un efecto beneficioso con dietas ricas en pescados, la suplementación con ácidos grasos omega 3 ha demostrado efectos débiles en el control de la actividad de la enfermedad; sin embargo, mejora la fatiga y la calidad de vida^(7,12).

Los suplementos dietéticos de PUFA omega 3 de cadena larga, como ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), pueden modular el metabolismo celular y la inflamación relacionada con la EM, disminuyendo la tasa de recaídas, la fatiga y la Expanded Disability Status Scale (EDSS). Esto también se observó cuando la dieta fue enriquecida con vitaminas A y E⁽⁵⁾.

El consumo de PUFA de cadena larga (semilla de sésamo, cáñamo, onagra, hígado de bacalao o pescado 3 veces a la semana) cuando la exposición al sol es baja puede ofrecer protección contra el riesgo de EM en niños y adolescentes^(5,7).

Una dieta baja en grasas con suplementos de antioxidantes condujo a menores concentraciones de proteína C reactiva (PCR), 8-iso-PGF2a e IL-6 tras la intervención^(5,10).

En líneas generales, entre un 3 y un 5% de los pacientes con EM presenta cifras elevadas de colesterol y/o triglicéridos. Cuando analizamos las distintas apolipoproteínas, se correlacionan con hallazgos radiológicos: niveles elevados de Apo B con aumento de lesiones en T2 a los 2 años del diagnóstico y aumento de Apo E con aumento de la atrofia de la sustancia gris cerebral⁽¹⁰⁾.

Los altos niveles endógenos de lipopolisacáridos son considerados como un potencial mediador clave de un estado inflamatorio de bajo grado, caracterizado por la elevación de los factores humorales circulantes (factor de necrosis tumoral alfa –TNF- α –, IL, adipocinas y PCR). Esta inflamación sistémica de bajo grado se ha correlacionado con el riesgo de enfermedades crónicas inmunes, síndrome metabólico, obesidad, diabetes mellitus, aterosclerosis y trastornos cardiovasculares. Estas condiciones parecen compartir la pérdida de la función de barrera epitelial intestinal, con una translocación de lipopolisacáridos intestinales en el torrente sanguíneo, especialmente durante la absorción de grasa⁽¹⁴⁾.

2.2. INGESTAS DE SAL (CINa)

Una ingesta de sal elevada (> 5 g/día) puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de la EM y otras enfermedades autoinmunes, además del desarrollo de hipertensión arterial y cardiopatías. El sodio estimula las células Th17, un subtipo de las células T que desempeña un papel central en la patogénesis de la EM y estimula la producción de citocinas proinflamatorias^(10,12).

También se relacionan con enfermedad de curso más severo, alteración de la BHE, aumento del número de brotes (2–4 veces la frecuencia) y mayor daño en el SNC con nuevas lesiones en T2 y aumento del volumen de lesiones en T2⁽¹³⁾. Sin embargo, cuando se analizaron las muestras urinarias congeladas del estudio *BENEFIT* para determinar si la ingesta de Na (extrapolada de la determinación de la excreción aislada de Na) tenía algún efecto en la conversión de síndrome clínicamente aislado (CIS) a EM clínicamente definida (EMCD) –número de brotes, actividad radiológica y/o clínica valorada con EDSS–, no se encontró ninguna relación, si bien el estudio no fue diseñado para valorar este efecto⁽¹⁵⁾.

Las elevadas concentraciones de sodio *in vitro* han demostrado afectar las células inmunes adaptativas y promueven la diferenciación a Th17 a través de la cinasa-1 (SGK1);

también aumentan la activación y la función de las células dendríticas mieloides (DC) para activar los linfocitos autorreactivos⁽¹³⁾ (**Figura 2**).

2.3. SOBREPESO Y OBESIDAD

La obesidad en la adolescencia es un factor desencadenante de la EM, concretamente un índice de masa corporal (IMC) > 27 kg/m², y a los 20 años incrementa el doble el riesgo de padecerla. Aún más, la asociación de obesidad con los marcadores genéticos HLA-DRB1*15:01 y la ausencia de HLA-A*02 potencia este riesgo 16 veces⁽⁵⁾. Sin embargo, este efecto depende de la población estudiada (Noruega/Italia) y se pierde en varones⁽¹⁰⁾. En este sentido, otros estudios asocian la presencia de obesidad infantil (7-13 años) y en adolescentes (12-18) con el debut de EM, afectando en mayor medida a las mujeres. Las mujeres obesas a los 18 años tienen un riesgo de desarrollar EM doble que en el resto de las mujeres⁽⁴⁾.

La obesidad puede adicionalmente empeorar la EM, aumentando la fatiga y la discapacidad; además, la obesidad es la principal causa del aumento de las úlceras por presión y la aparición de fenómenos trombóticos. La obesidad es frecuente entre pacientes con EM y contribuye a empeorar la morbilidad de la EM^(4,10).

La inflamación crónica, la producción de leptina (**Figura 2**) y la interferencia con el metabolismo de la vitamina D son mecanismos que subyacen en la obesidad. El estado de inflamación crónica se objetiva por elevación del cortisol, PCR, TNF e IL-6. Estos factores proinflamatorios inducen cambios en los linfocitos T CD4+, células Treg y Th17, aumentando la proporción de linfocitos T activados (estos cambios se correlacionan con mayor severidad en modelos animales). La leptina es una hormona fabricada por los adipocitos que regula el consumo energético y procesos inflamatorios en fase aguda⁽¹⁴⁾. La secreción de leptina aumenta al aumentar la proporción de grasa corporal; sin embargo, la deficiencia de leptina en situaciones de inanición agudas produce disminución de la secreción de IFN- γ , IL-4, IL-10, aumento de factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), disminución de T circulantes CD4+ y proliferación de células T alteradas, siendo este un efecto contradictorio⁽¹⁰⁾.

En pacientes con EM sin tratamiento previo se observan niveles elevados de leptina en suero y líquido cefalorraquídeo (LCR). La sobreexpresión del receptor de leptina LEPR se ha detectado en células T CD8+ y en monocitos de pacientes con EM durante los brotes, sugiriendo una implicación de LEPR en recaídas⁽¹⁴⁾. El exceso de tejido graso puede tener un impacto negativo en el metabolismo de la vitamina D, alterando la biodisponibilidad, obteniendo valores más bajos de vitamina D en obesos. Un elevado IMC se relaciona con una pobre respuesta al IFN- β 1b en pacientes con EM en el momento del diagnóstico (aumento en volumen lesional en T1 en resonancia y mayor grado de discapacidad)⁽⁴⁾.

2.4. OTROS: ALCOHOL, CAFEÍNA, VITAMINA B₁₂ Y ANTIOXIDANTES

2.4.1. Alcohol

Existe una relación inversa dosis-dependiente entre la ingesta de alcohol y el riesgo de EM tanto en hombres como en mujeres. Si esta ingesta es pequeña, puede tener un efecto

protector (antioxidante) frente a EM, que se pierde frente al efecto tóxico del alcohol (**Figura 2**) en las dosis medias y altas, más aún cuando se asocian al tabaco⁽⁴⁾.

Los trastornos asociados al consumo de alcohol (TACA), tanto los agudos como los crónicos, pueden empeorar el curso de la enfermedad en los pacientes con EM. Además, pueden contribuir a la aparición o al agravamiento de problemas como la obesidad, la hipertensión arterial, la diabetes mellitus, la pancreatitis, la cirrosis, los accidentes cerebrovasculares y varios tumores.

Los pacientes con TACA suelen presentar mayor prevalencia de trastornos de ansiedad y depresión, ideas de suicidio y lesiones autoinfligidas. Los TACA pueden agravar el declive cognitivo de los enfermos de EM y se han asociado a un peor seguimiento de los tratamientos, con el consiguiente empeoramiento del curso de la enfermedad⁽¹⁶⁾.

Entre las causas de muerte de los pacientes con EM y alcoholismo destacamos las infecciones: neumonías y otras infecciones respiratorias, sepsis e infecciones de las vías urinarias, todas ellas muy influidas por la inmunodepresión asociada al consumo de alcohol. Estos pacientes tienen 3,7 veces más riesgo de sufrir una neumonía neumocócica que la población general. Además, la incidencia de infecciones aumenta el riesgo de recaídas de EM. Entre los pacientes ingresados por EM, los TACA producen un exceso de mortalidad intrahospitalaria del 94,1% y una prolongación de la estancia de 2,4 días^(10,16). Cuando se produce el abandono del hábito alcohólico disminuye el riesgo de progresión⁽¹⁷⁾.

2.4.2. Cafeína

La cafeína presenta un efecto beneficioso por su efecto neuroprotector y efecto supresor sobre las citocinas proinflamatorias. Sin embargo, en el *Nurse Health Study*, realizado en mujeres, no se pudo demostrar el efecto neuroprotector de la cafeína^(4,10).

2.4.3. Vitamina B₁₂

Hay correlación negativa entre la concentración de la vitamina B₁₂ y la EDSS. La vitamina B₁₂ interviene en la conversión de la metionina sintasa mediada por homocisteína a metionina, que es esencial para la síntesis de ADN y ARN. La deficiencia de vitamina B₁₂ puede conducir a una mayor concentración de homocisteína (factor de riesgo vascular). Se necesitan más investigaciones para determinar si el tratamiento con suplementos de vitamina B₁₂ retrasa la progresión de la EM⁽⁵⁾.

2.4.4. Antioxidantes

El estrés oxidativo juega un papel importante en la patogénesis de la desmielinización y la neurodegeneración en la EM. En un proceso inflamatorio crónico con aumento de la fagocitosis, los compuestos de radicales libres se generan de manera extensa y dan lugar a daño tisular (**Figura 2**). El desequilibrio en las concentraciones de elementos antioxidantes en el cuerpo humano se considera como uno de los factores de riesgo de enfermedades relacionadas con el sistema inmune.

La relación Cu/Zn se considera un marcador de estrés oxidativo y un indicador de deficiencia de Zn. El Zn se utiliza como cofactor de la síntesis de ADN y ARN. También interviene en la producción de citocinas inflamatorias, conducción nerviosa (córtex y sistema límbico) y síntesis de mielina por el oligodendrocito⁽¹⁸⁾.

Los antioxidantes (DHA, resveratrol, bicyclol, vitamina C y E) podrían tener algún papel para contrarrestar el estrés oxidativo⁽¹⁹⁾.

3. TABACO

Fumar cigarrillos o fumar en pipa de agua⁽²⁰⁾ ha sido identificado como factor de riesgo para el debut de la EM (OR: 2-1,4)⁽³⁾. El riesgo es acumulativo según la exposición y es necesaria la combustión y el contacto con el pulmón, pues este efecto se pierde cuando el tabaco se consume oral o se administra solo nicotina; esto sugiere que el riesgo está en las sustancias alquitranadas del humo del tabaco⁽²¹⁾. El periodo crítico de exposición no está claro, pero hay datos que sugieren que es más intenso en adolescentes y jóvenes. Es posible que el aumento de la incidencia de EM en mujeres se deba a que la mujer ha incrementado el hábito tabáquico en las últimas décadas⁽⁴⁾.

La exposición al humo de tabaco como “fumador pasivo” también es un factor de riesgo para la desmielinización del SNC. Los resultados sugieren que la exposición al humo del tabaco en individuos con HLA-DRB1*15:01 interactúa para aumentar el riesgo de EM en los niños diagnosticados con encefalitis aguda diseminada monofásica⁽²²⁾.

El hábito tabáquico se ha asociado con una transición rápida de la enfermedad de forma CIS a EMCD y EM remitente-recurrente (EMRR) a EM secundaria progresiva (EMSP) (estudio noruego, registro NARCOMS, etc.), retraso en el diagnóstico^(21,23), aparición temprana de complicaciones neurológicas y neurovasculares en la población fumadora con déficits en distintos dominios funcionales, fundamentalmente la visión y el deterioro cognitivo^(21,24), presentando un efecto potenciador en varones⁽¹⁷⁾.

Existe mayor proporción de fumadores en EM que en la población general y estos tienen incrementados los fenómenos de desmielinización: intoxicación crónica por cianuro⁽²⁵⁾, ruptura de la BHE⁽¹⁹⁾, efectos inmunológicos, aumento de óxido nítrico y sus metabolitos⁽⁴⁾.

El mecanismo implicado en la etiopatogenia no es conocido; fumar modula las respuestas neuroendocrinas a factores estresantes funcionando para calmar síntomas, como depresión y ansiedad⁽²³⁾. La toxicidad neurovascular inducida por el hábito tabáquico está en relación con el daño funcional sobre la BHE. La BHE está compuesta principalmente por células endoteliales caracterizadas por poca actividad pinocítica, ausencia de fenestraciones y distribución de los transportadores de membrana de forma peculiar para el transporte activo de sustancias. Entre las células endoteliales hay complejos de unión de proteínas tales como VE-cadherina, que cuando se altera pierde el control del paso de sustancias⁽¹⁹⁾ (**Figura 2**).

Cuando una calada de cigarrillo se inhala, una gran cantidad de componentes solubles y gaseosos dentro del humo pasa rápidamente a través de los alvéolos del pulmón a la circulación arterial (omitiendo el primer pase metabólico) y alcanza rápidamente la microvasculatura del cerebro. El parénquima cerebral está protegido de los tóxicos del humo de tabaco por la BHE, pero la exposición crónica a estas sustancias afecta su viabilidad. Una BHE funcionalmente comprometida puede permitir el inicio y/o la progresión de procesos neuroinflamatorios y trastornos neurovasculares, que a su vez generan un círculo vicioso de deterioro continuo de la BHE. Esta fuerte respuesta inflamatoria es crucialmente relevante para definir el impacto cerebrovascular, facilitando la adhesión de monocitos a la célula endotelial y extravasación a través de la BHE.

El mecanismo de acción del tabaco incluye un elevado número de procesos oxidativos. Los procesos que ocurren en el espacio intersticial son los principales tóxicos vasculares y son los mecanismos centrales que inician y promueven la progresión de la enfermedad. Aunque todavía no hay evidencia de que una mayor ingesta de nutrientes antioxidantes pueda contrarrestar la toxicidad del humo de tabaco, hay datos que sugieren que los antioxidantes pueden llegar a ser eficaces en contrarrestar el estrés oxidativo. La estimulación de Nrf2 con suplementos de DHA, resveratrol o bicyclol puede ser beneficiosa, ya que tienen efecto citoprotector en las células endoteliales. La vitamina C previene la liberación de histamina, actuando como antiinflamatorio y antioxidante. La vitamina E es cardioprotectora contra la peroxidación inducida por el humo del tabaco y tanto la vitamina C como la E pueden proteger eficazmente a la BHE contra el daño oxidativo generado por humo de tabaco medido con S100 β (un marcador en suero de integridad de la BHE)⁽¹⁹⁾.

La exposición a la nicotina ha demostrado que disminuye la expresión de ZO-1, ocludina, cadherina y proteínas de unión, aumentando la permeabilidad de la BHE. También aumenta la angiogénesis imitando los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), aumentando así la densidad capilar y estimulando el crecimiento de vasos sanguíneos colaterales. La nicotina, el principal componente de los cigarrillos, ha demostrado un impacto contradictorio en el sistema inmunitario. Niveles sanguíneos de nicotina tienen una acción protectora y antiinflamatoria, especialmente al unirse a la subunidad $\alpha 7$ de los receptores de acetilcolina nicotínicos. La nicotina es un estimulante del SNC. La vía colinérgica contribuye a un entorno antiinflamatorio caracterizado por el aumento de la respuesta de las células Treg, la regulación negativa de las citocinas proinflamatorias y la apoptosis de las células proinflamatorias; esta vía también aumenta el rendimiento cognitivo a través de sus efectos sobre los receptores de acetilcolina nicotínicos. Sin embargo, otros autores sugieren que aumenta las citocinas proinflamatorias y provoca la apoptosis de los neutrófilos, liberando componentes intracelulares que actúan como autoantígenos⁽²¹⁾.

El fumar produce múltiples cambios en todo el sistema inmunológico. Altera la maduración de las células dendríticas y las células presentadoras de antígeno, y disminuye la producción de interleucinas produciendo un desbalance, por lo que se activa la inmunidad adaptativa mediada por células dendríticas.

Altera la función de los polimorfonucleares (migración y quimiotaxis) y reduce su capacidad macrofágica frente a los agentes intracelulares. Algunos componentes del humo del tabaco actúan sobre los linfocitos T y la nicotina disminuye la formación de anticuerpos T dependientes e induce anergia, mientras que la glicoproteína rica en polifenoles estimula la proliferación de células T, pero con un desbalance CD4/CD8. Sobre los linfocitos B reduce la producción de inmunoglobulinas y IL-1b, IL-2, IL-10, TNF- α e IFN- γ , sin embargo aumenta las células B autorreactivas.

El tabaquismo crónico aumenta los niveles de proteínas de fase aguda y proinflamatorias, especialmente TNF- α , receptores de TNF- α e IL-6, favoreciendo el perfil proinflamatorio y potenciando la autoreactivación de la respuesta anómala.

Los efectos de la nicotina se estudiaron en diferentes enfermedades autoinmunes, como la EM, la diabetes de tipo 1, la artritis reumatoide, la sarcoidosis, la enfermedad de Behçet y las enfermedades inflamatorias intestinales, y se obtuvieron resultados similares. Los principales problemas de la nicotina son la adicción y los efectos adversos relacionados con las formulaciones comercializadas^(21,26,27).

4. TRABAJO NOCTURNO

Se ha estudiado la influencia del trabajo a turnos con nocturnidad. El primer estudio sueco analizó este fenómeno en población de 16-70 años en un estudio de casos y controles durante 2005-2010, encontrando que solo aquellos jóvenes que trabajaban en turnos nocturnos de 9 p.m. a 7 a.m. < 20 años tenían incrementado el riesgo de desarrollar EM (OR: 1,7)⁽²⁸⁾; este mismo grupo analizó este efecto años más tarde, confirmando estos datos (OR: 1,2) en menores de 20 años⁽²⁹⁾. Recientemente, se ha confirmado este hecho en otro estudio danés analizado los años 2009 a 2014⁽³⁰⁾.

El mecanismo causal implica la interrupción circadiana (melatonina) y la privación del sueño. Los niveles de melatonina se correlacionan negativamente con la actividad de la enfermedad, bloqueando Th17 e induciendo la diferenciación de Th1⁽²⁾.

5. RECOMENDACIONES

- **Prevención primaria** (disminución de la incidencia de la enfermedad). Estas acciones deben ser aplicadas en poblaciones de riesgo (familiares directos de pacientes con EM, poblaciones con alta incidencia de la enfermedad)⁽¹¹⁾:

- Fomentar un estilo de vida saludable: ejercicio físico diario y dietas bajas en grasas animales, adecuado aporte calórico, consumo adecuado de verduras y frutas frescas, pescados, productos integrales y adecuado aporte de sal (< 5 g/día, preferiblemente yodada)⁽³¹⁾.

- Mantener normopeso.

- Adecuada exposición al sol.

- Evitar la exposición al humo del tabaco en los niños como medida preventiva y consejo antitabáquico para no iniciar el consumo.

- **Prevención secundaria** (disminuir la gravedad de la enfermedad). Estas acciones deben ser recomendadas a los pacientes con EM, si bien su efecto corrector está menos probado⁽¹¹⁾:

- Fomentar un estilo de vida saludable: ejercicio físico diario y dietas bajas en grasas animales, adecuado aporte calórico, consumo adecuado de verduras y frutas frescas, pescados, productos integrales y adecuado aporte de sal (< 5 g/día, preferiblemente yodada).

- Mantener normopeso.

- Adecuada exposición al sol.

- Abstinencia tabáquica.

- Consumo moderado de alcohol.

- Dietas bajas en grasas saturadas (Swank, McDougal, mediterránea, etc.).

- La suplementación con ácidos grasos omega 3 no debe ser recomendada en pacientes con EM para disminuir el número y la gravedad de las recaídas (sin evidencia suficiente). La suplementación con ácidos grasos de omega 6 podría ser de algún beneficio en el número y la gravedad de las recaídas⁽¹¹⁾.

- El uso de carotenoides y polifenoles de vegetales en pacientes con EM podría ser beneficioso, por su efecto antiinflamatorio debido a sus propiedades antioxidantes y actividad contra el estrés oxidativo⁽⁵⁾.

- Se recomienda tratar el déficit de vitamina B₁₂, si bien no se sabe si esto mejora la discapacidad de la EM⁽⁵⁾.

- La detección temprana y el tratamiento de las causas de desnutrición por un equipo multidisciplinar en pacientes con EM. No tenemos evidencia directa del efecto de la terapia nutricional sobre la supervivencia en pacientes con EM, pero es aconsejable un adecuado asesoramiento dietético para la prevención y el tratamiento de problemas nutricionales en pacientes con EM incapaces de cumplir con sus necesidades por ingesta insuficiente de alimentos con el uso de suplementos nutricionales orales.

- Recomendamos la deshabitación del alcohol y ciertas vacunaciones (neumococo y *Haemophilus*) para reducir la magnitud de las complicaciones infecciosas en pacientes con EM y dependencia del alcohol⁽¹⁶⁾.

- Suplementos de antioxidantes: DHA, resveratrol, bicyclol, vitamina C, vitamina E y vitamina A podrían ser útiles⁽¹⁹⁾.

Considerando que las intervenciones preventivas ocurren de forma secuencial y bajo supuestos específicos relacionados con el aumento del riesgo asociado con cada factor de riesgo y la prevalencia de exposición en la población, se ha calculado que la abstinencia tabáquica reduciría un 8%, la suplementación de vitamina D un 44%, la prevención de la obesidad un 15% y la prevención de un IMC < 27 un 12% de riesgo de EM. La actuación conjunta de estos factores de riesgo puede prevenir en gran medida los casos de EM^(4,10).

6. CONCLUSIONES

- Los factores ambientales parecen tener un efecto crucial de acción en los primeros momentos de la adolescencia y en adultos jóvenes.
 - Destacamos como factores ambientales desencadenantes más importantes de la EM: serología positiva para el VEB, obesidad en la adolescencia, exposición solar insuficiente, trabajo nocturno, exposición al humo de tabaco y niveles bajos de vitamina D, siendo responsables en gran medida del riesgo de la enfermedad.
 - Fomentar un estilo de vida saludable: ejercicio físico diario y dietas bajas en grasas animales, adecuado aporte calórico, consumo adecuado de verduras y frutas frescas, pescados, productos integrales, adecuado aporte de sal, abstinencia tabáquica y alcohólica desde la niñez podrían tener un efecto para disminuir la incidencia de la EM y mejorar el bienestar del paciente.
-

BIBLIOGRAFÍA

1. Simpson S, Blizzard L, Otahal P, Van der Mei I, Taylor B. Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: a meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82(10):1132-41.
2. Correale J, Farez MF, Gaitán MI. Environmental factors influencing multiple sclerosis in Latin America. *Mult Scler J Exp Transl Clin*. 2017;3(2):2055217317715049.
3. Olsson T, Barcellos LF, Alfredsson L. Interactions between genetic, lifestyle and environmental risk factors for multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*. 2017;13(1):25-36.
4. Amato MP, Derfuss T, Hemmer B, Liblau R, Montalban X, Soelberg Sørensen P, et al. Environmental modifiable risk factors for multiple sclerosis: Report from the 2016ECTRIMS focused workshop. *Mult Scler*. 2017 Jan 6:1352458516686847 [Epub ahead of print].
5. Bagur MJ, Murcia MA, Jiménez-Monreal AM, Tur JA, Bibiloni MM, Alonso GL, et al. Influence of Diet in Multiple Sclerosis: a Systematic Review. *Adv Nutr Bethesda Md*. 2017;8(3):463-72.
6. Fleck A-K, Schuppan D, Wiendl H, Klotz L. Gut-CNS-Axis as Possibility to Modulate Inflammatory Disease Activity-Implications for Multiple Sclerosis. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5536015/>.
7. Azary S, Schreiner T, Graves J, Waldman A, Belman A, Guttman BW, et al. Contribution of dietary intake to relapse rate in early paediatric multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018;89(1):28-33.
8. Altowaijri G, Fryman A, Yadav V. Correction to: Dietary Interventions and Multiple Sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2017;17(12):93.
9. Saresella M, Mendozzi L, Rossi V, Mazzali F, Piancone F, LaRosa F, et al. Immunological and Clinical Effect of Diet Modulation of the Gut Microbiome in Multiple Sclerosis Patients: A Pilot Study. *Front Immunol*. 2017;8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5661395/>.
10. Altowaijri G, Fryman A, Yadav V. Correction to: Dietary Interventions and Multiple Sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2017;17(12):93.
11. Burgos R, Bretón I, Cereda E, Desport JC, Dziewas R, Genton L, et al. ESPEN guideline clinical nutrition in neurology. *Clin Nutr*. 2018;37(1):354-96.
12. Clafin SB, Mei IAF van der, Taylor BV. Complementary and alternative treatments of multiple sclerosis: a review of the evidence from 2001 to 2016. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018;89(1):34-41.
13. Hammer A, Schliep A, Jörg S, Haghikia A, Gold R, Kleinewietfeld M, et al. Impact of combined sodium chloride and saturated long-chain fatty acid challenge on the differentiation of T helper cells in neuroinflammation. *J Neuroinflammation*. 2017;14. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5596846/>.
14. Esposito S, Bonavita S, Sparaco M, Gallo A, Tedeschi G. The role of diet in multiple sclerosis: a review. *Nutr Neurosci*. 2018 Jul;21(6):377-90.
15. Fitzgerald KC, Munger KL, Hartung H-P, Freedman MS, Montalbán X, Edan G, et al. Sodium intake and multiple sclerosis activity and progression in BENEFIT. *Ann Neurol*. 2017;82(1):20-9.
16. Gili-Miner M, López-Méndez J, Vilches-Arenas A, Ramírez-Ramírez G, Franco-Fernández D, Sala-Turréns J, et al. Multiple sclerosis and alcohol use disorders: in-hospital mortality, extended hospital stays, and overexpenditures. *Neurol Barc Spain*. 2018;33(6): 351-9.
17. Paz-Ballesteros WC, Monterrubio-Flores EA, Jesús Flores-Rivera J de, Corona-Vázquez T, Hernández-Girón C. Cigarette Smoking, Alcohol Consumption and Overweight in Multiple Sclerosis: Disability Progression. *Arch Med Res*. 2017;48(1):113-20.

18. Socha K, Karpinska E, Kochanowicz J, Soroczynska J, Jakoniuk M, Wilkiel M, et al. Dietary habits; concentration of copper, zinc, and Cu-to-Zn ratio in serum and ability status of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Nutrition*. 2017 Jul-Aug;39-40:76-81.
19. Naik P, Cucullo L. Pathobiology of tobacco smoking and neurovascular disorders: untied strings and alternative products. *Fluids Barriers CNS*. 2015;12. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4628383/>.
20. Abdollahpour I, Nedjat S, Sahraian MA, Mansournia MA, Otahal P, Mei I van der. Waterpipe smoking associated with multiple sclerosis: a population-based incident case-control study. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl*. 2017;23(10):1328-35.
21. Özcan ME, Ince B, Bingöl A, Ertürk S, Altınöz MA, Karadeli HH, et al. Association between smoking and cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2014;10:1715-9.
22. Lavery AM, Collins BN, Waldman AT, Hart CN, Bar-Or A, Marrie RA, et al. The contribution of secondhand tobacco smoke exposure to pediatric multiple sclerosis risk. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl*. 2018;1352458518757089.
23. Newland P, Flick L, Xian H, Thomas FP. Symptom Co-occurrences Associated with Smoking in Individuals with Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *Int J MS Care*. 2016;18(4):163-8.
24. Briggs FB, Gunzler DD, Ontaneda D, Marrie RA. Smokers with MS have greater decrements in quality of life and disability than non-smokers. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl*. 2017;23(13):1772-81.
25. Kvistad S, Myhr K-M, Holmøy T, Benth JŠ, Løken-Amsrud KI, Wergeland S, et al. No association of tobacco use and disease activity in multiple sclerosis. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2016;3(4). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4946773/>.
26. Gomes JP, Watad A, Shoenfeld Y. Nicotine and autoimmunity: the lotus' flower in tobacco. *Pharmacol Res*. 2018;128:101-9.
27. Amson Y, Shoenfeld Y, Amital H. Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmun*. 2010;34:J258-65.
28. Hedström AK, Åkerstedt T, Hillert J, Olsson T, Alfredsson L. Shift work at young age is associated with increased risk for multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2011;70(5):733-41.
29. Hedström AK, Åkerstedt T, Olsson T, Alfredsson L. Shift work influences multiple sclerosis risk. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl*. 2015;21(9):1195-9.
30. Gustavsen S, Søndergaard HB, Oturai DB, Laursen B, Laursen JH, Magyari M, et al. Shift work at young age is associated with increased risk of multiple sclerosis in a Danish population. *Mult Scler Relat Disord*. 2016;9:104-9.
31. Salt reduction. World Health Organization; 2016. Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salt-reduction>.

MICROBIOTA Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE

Autores | **Laura Moles¹, David Otaegui¹, Tamara Castillo-Triviño^{1,2}**

Editores | **Alfredo Rodríguez-Antigüedad Zarranz³,
José Carlos Álvarez-Cermeño⁴**

¹ Unidad de Esclerosis Múltiple. Instituto de Investigación Sanitaria Biodonostia

² Servicio de Neurología. Hospital Universitario Donostia. Gipuzkoa

³ Servicio de Neurología. Hospital Universitario Cruces. Barakaldo, Bizkaia

⁴ Servicio de Neurología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

1. ¿Qué es la microbiota?

1.1. ¿Dónde se localiza?

1.2. Composición de la microbiota

1.3. Funciones de la microbiota

1.3.1. Función metabólica

1.3.2. Función protectora

1.3.3. Función reguladora

1.3.4. Función inmunitaria

1.3.5. Eje intestino-microbiota-cerebro

1.4. ¿Cuándo se desarrolla?

1.5. Técnicas de estudio de la microbiota

1.5.1. Cultivo

1.5.2. Métodos moleculares

1.6. Efectos del ambiente

2. Disbiosis. Microbiota en la enfermedad

2.1. Concepto

2.2. Microbiota y sistema inmune

2.3. Microbiota y esclerosis múltiple

3. Tratamientos

3.1. Probióticos

3.2. Tratamiento fecal

4. Conclusiones

Bibliografía

RESUMEN

Definimos microbiota intestinal como el conjunto de microorganismos que pueblan nuestro intestino. Esta microbiota está formada en su mayoría por bacterias y arqueas, pero también por levaduras y hongos (micobiota). El estudio de la diversidad de la microbiota se lleva a cabo a través del estudio de los genes de estas especies (el microbioma).

Su riqueza y diversidad hace difícil su estudio, pero ya se puede afirmar que la microbiota, y la relación que establece con el resto de los tejidos de nuestro organismo, es clave en nuestro estado de salud y, por ende, en la aparición de numerosas enfermedades.

En concreto, la relación de la microbiota con el sistema inmune y con el cerebro a través de la interacción de metabolitos y diferentes vías de comunicación entre la microbiota y estos tejidos ha hecho que se ponga el foco en la relación entre la riqueza de la microbiota y la esclerosis múltiple (EM).

En la última década se ha demostrado en ratones desprovistos de microbiota (germ free) la necesidad de esta para la generación del modelo animal espontáneo de EM. En este mismo modelo se ha demostrado que, al repoblar a estos animales con microbiota de pacientes con EM, aumentaba el número de animales enfermos frente a aquel grupo que había sido repoblado con microbiota de individuos sanos. Estos estudios unidos a otros trabajos que han estudiado la diversidad de la parte bacteriana de la microbiota a través de los estudios de secuenciación del gen 16S rRNA, presente en todos los géneros, han permitido iniciar una lista, que sin duda crecerá en el futuro, de géneros relacionadas con la EM. A día de hoy podemos nombrar Akkermansia, Acinetobacter, Parabacteroides y Sutterella.

Estos estudios han iniciado un prometedor campo de estudio en la EM, tanto para comprender mejor cómo funciona la enfermedad, desde su inicio hasta su desarrollo, como para estudiar la respuesta a determinados fármacos. El estudio de la microbiota y de sus funciones, pero sobre todo de sus interacciones con el resto de los órganos de nuestro cuerpo, resultará clave en la comprensión de la enfermedad.

Se han iniciado ya aproximaciones terapéuticas en la enfermedad mediante la sustitución de microbiota usando trasplantes y mediante la modificación de la microbiota con el uso de probióticos, con resultados muy preliminares que permiten pensar en un nuevo campo de tratamientos.

1. ¿QUÉ ES LA MICROBIOTA?

El término *microbiota* se define como el conjunto de microorganismos que pueblan un hábitat. Actualmente, este término se emplea para referirse a la microbiota humana y más concretamente a la microbiota intestinal, la más diversa y abundante de nuestro cuerpo. En este caso, el concepto de microbiota se amplía haciendo referencia no solo a la ocupación de un espacio físico, sino también a la convivencia y continua interacción con el hospedador.

Cabe señalar que con frecuencia el estudio de la microbiota se centra en las poblaciones de bacterias (y arqueas); sin embargo, el concepto de microbiota, estrictamente hablando, incluye a todos los microorganismos presentes y, por tanto, debería incluir el estudio de levaduras, hongos y “virus”. Puesto que estos microorganismos no suelen incluirse, comienzan ya a estudiarse en líneas independientes como es el caso de la microbiota (levaduras y hongos).

A menudo se emplean indistintamente los términos de *microbiota* y *microbioma*; sin embargo, son conceptos diferentes. Mientras que el primero hace referencia a los microorganismos presentes en un sistema, el segundo se refiere al conjunto de genes de la microbiota.

En un campo que está dando sus primeros pasos, las cifras pueden ser engañosas, ya que dependen mucho de las técnicas usadas; en cualquier caso, sirven para contextualizar la importancia de la microbiota. Se estima que en nuestro intestino cohabitan con nosotros más de 10.000 especies, con una representación de unas 3×10^{13} células, lo que hace una ratio de un microorganismo por cada célula humana⁽¹⁾. La complejidad y riqueza de la microbiota se representa también en el estudio del microbioma, suponiendo un reto mucho más complejo, por su diversidad y complejidad, que el estudio del genoma humano. El microbioma humano es, por tanto, heterogéneo entre los distintos nichos del cuerpo (piel, intestino, vagina, etc.), es personal⁽²⁾ (diferente entre individuos) y evoluciona durante nuestra vida⁽³⁾.

1.1. ¿DÓNDE SE LOCALIZA?

Aunque la mayoría de los estudios sobre microbiota se centran en el tracto gastrointestinal (TGI), los avances técnicos han permitido describir las poblaciones microbianas de numerosas localizaciones en el cuerpo humano como, por ejemplo, la microbiota de la piel, del tracto genitourinario, del tracto respiratorio, del canal auditivo, de la glándula mamaria... Cada una de las mucosas y superficies de nuestro cuerpo constituye un microambiente específico, cuyas características determinan la composición cualitativa y cuantitativa de su microbiota en condiciones fisiológicas. Es importante señalar que la microbiota de cada uno de estos microambientes no constituye un sistema cerrado, sino que existe comunicación e intercambio de poblaciones entre las distintas mucosas. Los mecanismos por los que determinadas bacterias pueden atravesar el epitelio intestinal, evadir el sistema inmune y alcanzar distintas localizaciones continúan siendo un enigma para la comunidad científica. Una de las hipótesis más aceptadas es la existencia de una ruta endógena en la que macrófagos y/o células dendríticas juegan un papel determinante como vehículo para los microorganismos. Se ha demostrado que las células dendríticas son capaces de abrir las “uniones estrechas” del epitelio intestinal y atravesarlo con sus dendritas para captar microorganismos comensales del lumen. Estas células conducen los

microorganismos hasta los nódulos linfáticos y desde estos a las diferentes mucosas. Reforzando esta idea de migración de los microorganismos, las mismas cepas administradas por vía oral se han localizado posteriormente en la vagina o en la glándula mamaria⁽⁴⁾.

Las barreras hematoencefálica y placentaria constituyen los sistemas de protección más restrictivos de nuestro organismo frente a la entrada de sustancias extrañas. La presencia de este recubrimiento ha hecho que clásicamente tanto el sistema nervioso central (SNC) como la placenta se hayan considerado ambientes estériles. Sin embargo, numerosos estudios apuntan ya a la presencia de una microbiota placentaria en embarazos sanos⁽⁵⁾, señalando una interacción mucho más temprana de la microbiota con el feto y rechazando la idea de ambientes estériles en nuestro organismo. El creciente aumento del estudio de la microbiota humana y la mejora en las técnicas de estudio y herramientas de análisis aseguran avances muy prometedores en este campo.

Como hemos visto, la microbiota humana es muy variada, en composición y localización, entonces, ¿por qué la mayoría de los estudios se centran en la microbiota intestinal? Desde el conocimiento actual, creemos que existen varias causas:

- El intestino, con sus, aproximadamente, 7,5 metros de longitud y 300 m² de superficie, constituye la principal superficie de intercambio y comunicación con el exterior, estando condicionado entre otros por la dieta. Por otra parte, su compleja interacción con los sistemas nervioso, endocrino e inmunitario resulta fundamental para el mantenimiento de la homeostasis del organismo.
- Los estudios demuestran que, además, presenta la microbiota más abundante y diversa del organismo.
- Técnicamente, el estudio de la microbiota a través de las heces permite una aproximación bastante cercana a la microbiota intestinal sin necesidad de recurrir a técnicas invasivas.

La diversidad de la microbiota en el TGI humano varía considerablemente a lo largo de su recorrido. La microbiota de las partes superiores del TGI es diferente a la de los tramos medios o inferiores. Cuando se estudia la microbiota, se hace constantemente referencia al término diversidad, que intenta explicar el número de especies de un ecosistema y su abundancia relativa frente al total de las especies de ese ecosistema. El TGI está sometido a numerosas secreciones para la degradación de los nutrientes que, junto al peristaltismo, los cambios de pH y los componentes de la dieta, determinan la colonización del mismo.

1.2. COMPOSICIÓN DE LA MICROBIOTA

La composición de la microbiota humana es el resultado de miles de años de evolución y presión selectiva, dando lugar a un estado de equilibrio que resulta beneficioso tanto para el hospedador como para los microorganismos que alberga (**Figura 1**).

Entre los más de 50 filos bacterianos descritos hasta la fecha, tan solo 4 (*Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* y *Bacteroidetes*) son abundantes en la microbiota humana y otros 9 filos más pueden aparecer de forma minoritaria^(6,7). A nivel de grupos taxonómicos mayores, los cambios que tienen lugar a lo largo del TGI se caracterizan por la disminución progresiva de *Firmicutes* desde la cavidad oral (~75%) hasta el estómago y el intestino, donde representa porcentajes de ~50 y 52%, respectivamente. La presencia de *Bacteroidetes*, por el contrario, tiende a aumentar desde la boca (~25%) al intestino (~45%), aunque alcanza concentraciones mínimas en el estómago (~20%).

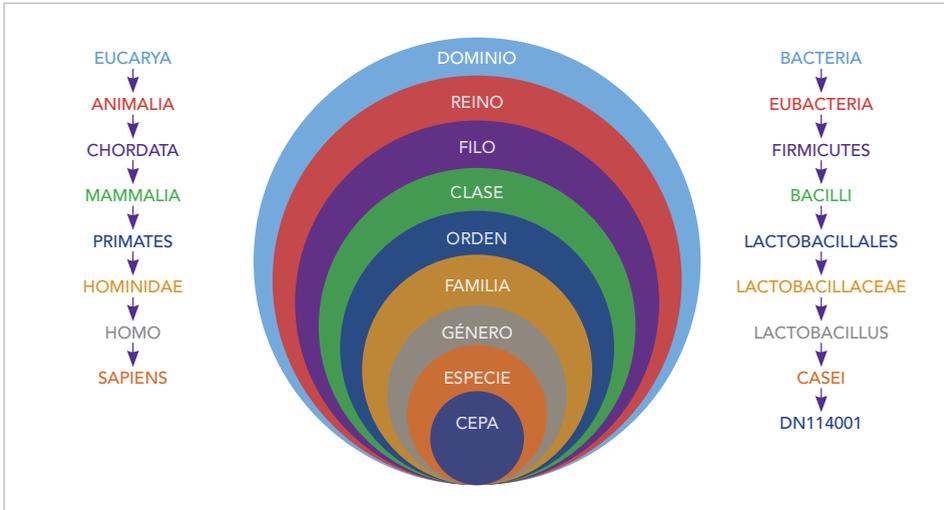


Figura 1. Niveles taxonómicos de los seres vivos. Ejemplos de especies (cepas) familiares de eucariotas (*H. sapiens*) y procariotas (*L. casei* DN 114001; Actimel®).

El intestino grueso es la zona más densamente poblada del TGI (10^{11} - 10^{12} UFC/g). Allí el tránsito se ralentiza favoreciendo la actividad de las poblaciones residentes capaces de degradar nutrientes no digeridos en regiones anteriores.

La microbiota fecal constituye el 60% del contenido fecal sólido e incluye miles de especies bacterianas distintas. Destaca la presencia de microorganismos anaerobios, representados en un 99% por miembros de los filos *Firmicutes* y *Bacteroidetes*⁽⁸⁾. Los géneros más representativos son *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* y *Ruminococcus*⁽⁸⁾. Entre los anaerobios facultativos (< 1% microbiota intestinal) destacan la familia *Enterobacteriaceae* y los géneros *Enterococcus* y *Lactobacillus*.

La microbiota del intestino grueso se ha descrito como específica de cada individuo y relativamente estable una vez alcanza su equilibrio (en torno a los 2-3 años de edad). A pesar de la gran variabilidad individual de la microbiota, se han descrito 3 “enterotipos” distintos entre la población “sana”. Cada uno de estos enterotipos se caracteriza por la presencia de un pequeño grupo de especies bacterianas dominantes y muchas otras en pequeñas cantidades. Se considera que las especies dominantes son responsables de la presencia de especies minoritarias que, a su vez y a pesar de su escasa representación, pueden tener funciones determinantes para el mantenimiento de la salud del hospedador.

- El enterotipo 1 está enriquecido en los géneros *Bacteroides* y *Parabacteroides*.
- El enterotipo 2 en *Prevotella* y *Desulfovibrio*.
- El enterotipo 3 en *Ruminococcus* y *Akkermansia*.

Cada enterotipo tiene preferencia por el uso de unas determinadas rutas metabólicas para la obtención de energía. A pesar de las diferentes composiciones de cada uno de los enterotipos, se considera que existe una redundancia funcional entre ellos y entre el 25 y el 43% de las funciones enzimáticas son compartidas entre enterotipos.

La microbiota inicia su colonización desde el momento de la gestación y se va formando durante el primer año de vida para consolidarse a los 2-3 años, sufriendo un

declive en diversidad en la vejez. No obstante, durante nuestras vidas sufrimos cambios, tal vez sutiles, en la composición de nuestra microbiota que afectan, como veremos más adelante, a nuestra salud.

1.3. FUNCIONES DE LA MICROBIOTA

Pese a que de manera clásica se ha considerado a la microbiota como aislada de las funciones de nuestro organismo y se han circunscrito sus funciones al proceso de digestión de nutrientes, en las últimas décadas se ha empezado a demostrar que las funciones de la microbiota son muy variadas, con una gran interacción con el resto de las funciones de nuestro organismo y que, por tanto, tiene una gran importancia en nuestra salud. De hecho, muchos científicos consideran nuestra microbiota un órgano más (hasta hace poco infravalorado) de nuestro cuerpo. Aunque pueda parecer un concepto abstracto, cumple muchas de las características propias de un órgano, ya que está compuesta por diferentes “líneas celulares” con capacidad de comunicarse entre ellas y con el resto de los órganos del cuerpo; consume, almacena y redistribuye energía; interviene en transformaciones químicas esenciales para el funcionamiento del organismo; y es capaz de mantenerse y repararse por sí misma mediante procesos de autorreplicación⁽⁹⁾.

Algunas de las funciones de la microbiota se ejercen a nivel local; sin embargo, la mayoría de ellas no se limitan en absoluto al ámbito intestinal, sino que abarcan también la interacción con las microbiotas existentes en otras mucosas y epitelios, y prácticamente con la totalidad de los sistemas y aparatos del organismo (Figura 2).

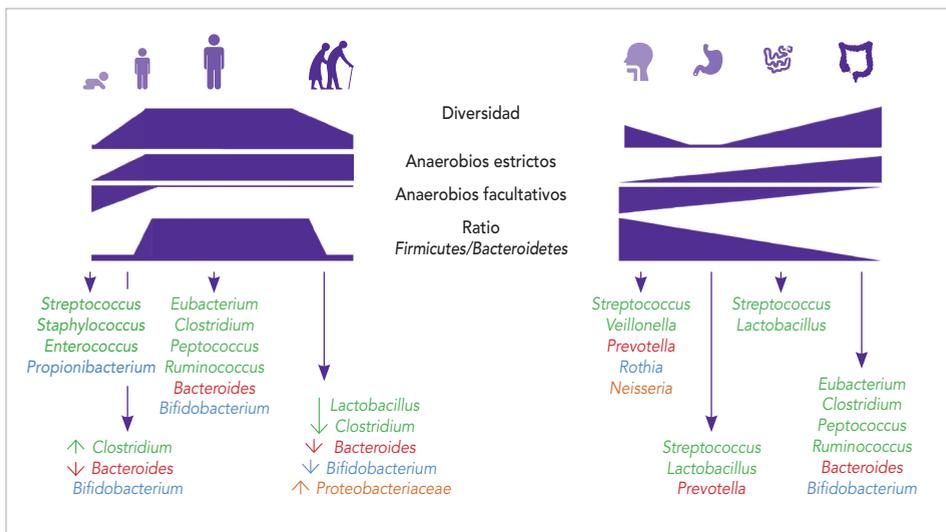


Figura 2. Evolución de la microbiota a lo largo del tracto gastrointestinal (TGI) y con la edad representada con los parámetros de diversidad, principales microorganismos (anaerobios facultativos y estrictos) y ratio *Firmicutes/Bacteroidetes*. Las especies mayoritarias de cada edad (nacimiento, niñez, madurez y vejez) y cada parte del TGI (boca, estómago, intestino delgado y colon) se resaltan en colores en función del filo al que pertenecen: *Firmicutes* en verde, *Bacteroidetes* en rojo, *Actinobacteria* en azul y *Proteobacteria* en naranja.

1.3.1. Función metabólica

Los componentes de la microbiota son capaces de degradar componentes de la dieta no digeribles por el TGI humano y generar nutrientes asimilables o con importantes funciones metabólicas. La microbiota participa en la síntesis de vitaminas y es responsable de la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), principalmente acetato, propionato y butirato. Estos AGCC llevan a cabo funciones muy importantes tanto al nivel intestinal (diferenciación celular del epitelio intestinal y absorción de iones), como sistémico.

La actividad metabólica de nuestra microbiota es comparable a la del hígado⁽¹⁰⁾, no solo por su acción directa sobre los componentes de la dieta sino también por su capacidad de regular la expresión de genes humanos implicados en el metabolismo de nutrientes.

1.3.2. Función protectora

Las poblaciones constituyentes de un ecosistema superpoblado, como es la microbiota intestinal, interactúan entre sí hasta alcanzar un estado de equilibrio en el que sus miembros tratan de evitar la incorporación de microorganismos transeúntes⁽¹¹⁾. Para ello llevan a cabo estrategias de exclusión competitiva (competencia por el espacio y los recursos disponibles) y la producción de ácidos y/o sustancias antimicrobianas que evitan el crecimiento de organismos ajenos al ecosistema y potencialmente dañinos para nuestro organismo. Por otra parte, contribuyen a la integridad de la barrera intestinal, principalmente mediante la producción de AGCC, y a la degradación de sustancias xenobióticas que resultan dañinas para el hospedador.

1.3.3. Función reguladora

Las interacciones entre el sistema endocrino y la microbiota intestinal son numerosas. Por una parte, la microbiota es capaz de producir y responder a hormonas como la dopamina, la serotonina, el ácido gamma-aminobutírico (GABA) o la noradrenalina. Por otra parte, su crecimiento y expresión génica (formación de biofilms, virulencia) pueden regularse mediante la secreción hormonal y viceversa; su composición es determinante en la regulación de procesos endocrinos como la homeostasis energética (regulación de leptina y grelina). Aunque se desconocen los mecanismos precisos por los que tiene lugar la interacción, el papel de la microbiota intestinal en la regulación hormonal es determinante e influye en multitud de respuestas como el comportamiento, el metabolismo, el apetito, el crecimiento y la reproducción.

1.3.4. Función inmunitaria

Hasta la fecha, desconocemos los mecanismos precisos que determinan la formación de una u otra microbiota. Sin embargo, sabemos que la adquisición de la misma es un factor fundamental para la maduración del sistema inmunitario innato y adquirido.

La adecuada interacción entre los microorganismos y el sistema inmunitario en las primeras etapas de la vida conduce al establecimiento de una “tolerancia”, caracterizada por una respuesta inmunitaria reducida frente a bacterias no patógenas y antígenos alimentarios. De hecho, se considera que la adquisición de una microbiota adecuada en los inicios de la vida tiene efectos inmunitarios funcionales a corto, medio y largo plazo⁽¹²⁾.

La microbiota también interviene en la maduración de las células T *helper* (Th) y en su diferenciación a células Th1, Th2, Th17 y Treg. En condiciones fisiológicas, los recién nacidos se

caracterizan por una respuesta predominantemente de tipo Th2. Con el aumento de la colonización intestinal, el sistema inmunitario recibe un notable estímulo antigénico de tipo pro-Th1 que le permite equilibrar esa situación. La baja exposición a microorganismos al inicio de la vida dificulta este equilibrio, prevaleciendo las respuestas Th2, que aumentarán notablemente el riesgo de padecer problemas alérgicos. Además de la importancia de los primeros años, la interacción entre el sistema inmune y la microbiota se da a lo largo de toda la vida, siendo vital para un correcto funcionamiento de nuestro organismo.

1.3.5. Eje intestino-microbiota-cerebro

En los últimos años ha cobrado importancia el estudio del llamado eje microbiota-intestino-cerebro. Este término se usa para describir las interacciones entre la microbiota y el organismo, y el efecto que estas interacciones tienen en el SNC.

Varios estudios epidemiológicos y ensayos *in vivo* han demostrado que la colonización intestinal influye en el desarrollo del SNC, que puede tener consecuencias a largo plazo. Entre las vías de interacción de este eje destacan la inducción de la secreción de neuropéptidos por el intestino, la estimulación del nervio vago o la señalización mediada por el sistema inmune. La producción de AGCC por la microbiota también parece tener un papel destacado en la regulación del eje, ya que estimulan la motilidad del TGI y la producción de serotonina, además de regular el sistema neuroendocrino⁽⁷⁾. El papel de la microbiota en el correcto funcionamiento y la maduración de la microglía parece ser fundamental. Estas células están presentes en todo el SNC, tienen capacidad fagocítica y participan en la función fisiológica del cerebro y el mantenimiento de su homeostasis. Por otra parte, se han relacionado con el inicio y el desarrollo de varias enfermedades neurodegenerativas, entre las que se incluye la esclerosis múltiple (EM). Estudios realizados en ratones *germ free* o carentes de microbiota demuestran la desregulación de su microglía. La maduración de la microglía de estos ratones es incompleta y su respuesta inmune innata está muy disminuida (Erny 2015). Una vez más, los AGCC parecen tener un papel determinante en la regulación de la maduración de estas células, aunque se desconocen los mecanismos concretos por los que esta regulación tiene lugar. La carencia de microbiota se ha relacionado también con la integridad de la barrera hematoencefálica, siendo más débil en córtex frontal, hipotálamo y el cuerpo estriado en animales *germ free* (Braniste *et al.* 2014). La disfunción de la barrera en estos animales se ha asociado con la desregulación de las uniones estrechas del epitelio, incluyendo la disminución de las proteínas ocludina y claudina, principales componentes de las zonas de oclusión. La recolonización con una microbiota compleja o el tratamiento con butirato (AGCC) facilitan la recuperación de la integridad de la barrera. La ausencia de microbiota se ha relacionado también con la desregulación de genes implicados en la mielinización de regiones específicas del cerebro en modelo murino (Hoban 2016).

Por otra parte, el sistema nervioso entérico, cuya función es la regulación del flujo sanguíneo y de la motilidad gastrointestinal, requiere de la interacción con el sistema inmune y la microbiota para su correcto funcionamiento y el mantenimiento de la homeostasis.

Estos datos apuntan a que las interacciones entre microbiota y sistema nervioso no solo existen, sino que son numerosas, lo cual abre un nuevo abanico de posibilidades en el estudio y el futuro tratamiento de enfermedades neurológicas, con más incidencia probablemente en las enfermedades neuroinflamatorias, neurodegenerativas y neurooncológicas.

1.4. ¿CUÁNDO SE DESARROLLA?

Las dificultades éticas y técnicas han complicado el estudio de la microbiota uterina o placentaria en embarazos sanos. Por tanto, hasta hace relativamente poco tiempo se ha considerado que el feto era estéril en el útero materno y, por tanto, la colonización se iniciaba en el momento del parto. Estudios recientes han demostrado la existencia de bacterias en muestras de líquido amniótico, sangre de cordón umbilical y membranas fetales en ausencia de infección o inflamación. Estos trabajos sugieren que el complejo proceso de colonización intestinal se inicia ya, a pequeña escala, en las últimas fases del periodo fetal. Tras el nacimiento, la colonización aumenta de forma drástica por el contacto con las microbiotas vaginal, intestinal y/o mamaria de la madre y del ambiente que rodea al recién nacido. En este contexto, los factores que van a condicionar el proceso de colonización son muy variados. Entre ellos, cabe destacar la composición de la microbiota de familiares y personal médico, la edad gestacional al nacer, la forma y el lugar de nacimiento, la medicación (particularmente la antibioterapia), la alimentación o el tiempo de permanencia en el ambiente hospitalario.

Los primeros años de vida constituyen la fase más dinámica de la microbiota intestinal. La microbiota infantil se caracteriza por una menor concentración de microorganismos, una mayor oscilación de las poblaciones microbianas, mayor presencia de especies de *Bifidobacterium*, *Clostridium leptum* y *Clostridium coccooides*, y menor tasa de *Bacteroides/Firmicutes* (relación de los filos mayoritarios en el intestino, muy empleada en el estudio de la microbiota humana).

La sucesión de microorganismos en el proceso de colonización es muy compleja y todavía desconocida. En líneas generales, se considera que es iniciado por microorganismos anaerobios facultativos (microorganismos capaces de crecer tanto en presencia como en ausencia de oxígeno), entre los que destacan los géneros *Streptococcus* y *Staphylococcus*, además de bacterias lácticas y enterobacterias. Estos microorganismos son los responsables de crear un ambiente reductor que permita el posterior asentamiento de los grupos anaerobios estrictos que dominan el intestino adulto, como los géneros *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Eubacterium*, *Ruminococcus* o *Clostridium*.

La alimentación parece ser un factor determinante en el proceso de colonización; de hecho, se han descrito importantes diferencias entre recién nacidos alimentados con leche humana o fórmulas infantiles. La introducción de alimentos sólidos es otro momento de gran impacto en la dinámica de la microbiota y se considera que ya a los 2-3 años de edad los grupos dominantes de la microbiota son similares a los del individuo adulto. En el individuo adulto la microbiota se mantiene bastante estable, aunque pueden producirse cambios temporales o permanentes en la misma determinados por factores ambientales⁽⁸⁾. Una vez alcanzada la vejez, aparecen nuevas oscilaciones en la microbiota caracterizadas por una pérdida de diversidad, el descenso de los géneros *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus* y *Clostridium*, y el aumento del filo *Proteobacteria*, principalmente de algunos de sus miembros que pueden actuar como patógenos oportunistas.

1.5. TÉCNICAS DE ESTUDIO DE LA MICROBIOTA

Las técnicas para el estudio de la microbiota son muy variadas, aunque se centran básicamente en 2 estrategias: el cultivo (técnicas dependientes de cultivo) y los métodos -ómicos,

basados fundamentalmente en el estudio del gen 16S bacteriano (técnicas independientes de cultivo). Tanto unas como otras ofrecen una serie de ventajas e inconvenientes, además de presentar sesgos que es importante conocer para seleccionar en cada caso la técnica más adecuada. Probablemente, la combinación de ambas estrategias ofrezca la representación más cercana a la realidad de sistemas microbianos complejos como la microbiota.

1.5.1. Cultivo

Las técnicas de microbiología clásica para el estudio de poblaciones microbianas complejas se basan en el cultivo de microorganismos en medios selectivos y diferenciales, así como el empleo de distintas condiciones de crecimiento (temperatura, pH, atmósfera, etc.). Entre las ventajas del cultivo están el estudio exclusivo de microorganismos viables y la posibilidad del estudio detallado de los microorganismos aislados; y, por tanto, un estudio más comprensivo de la microbiota. Las principales desventajas de las técnicas dependientes de cultivo son que se pierde una parte importante de la diversidad microbiana (aquella correspondiente a los microorganismos no cultivables), son más complicadas y requieren mayor tiempo de estudio.

El principal de los sesgos es que la mayoría de los microorganismos de la microbiota son anaerobios estrictos, lo que complica su manejo y estudio. Además, muchos de ellos son “no cultivables” o al menos hoy en día desconocemos los medios necesarios para hacerlos proliferar en el laboratorio. La selección de los medios de cultivo también produce en sesgo en los resultados.

El cultivo, tras ser desplazado en las últimas décadas por las técnicas moleculares, está resurgiendo. Actualmente, se están ensayando nuevas estrategias para el crecimiento de microorganismos minoritarios o difíciles de crecer, que han permitido el desarrollo de una nueva disciplina conocida como “culturómica”. La culturómica pretende detectar por técnicas dependientes de cultivo una diversidad microbiana similar a la obtenida por técnicas moleculares.

1.5.2. Métodos moleculares

Las técnicas independientes de cultivo son actualmente líderes en el estudio de ecosistemas microbianos complejos. Este tipo de técnicas “ómicas” se centran en el estudio masivo de la composición de la microbiota o en el estudio de su metaboloma, o incluso de su transcriptoma. La técnica más utilizada es la aplicación de técnicas de *next generation sequencing* (NGS) para realizar un estudio de asociación del microbioma (MWAS, por sus siglas en inglés).

1.5.2.1. Secuenciación del 16S rRNA

El RNA ribosomal 16S es un componente de la subunidad 30S del ribosoma de procariontas (bacterias y arqueas) y el gen que lo codifica (16S rRNA) constituye el principal marcador filogenético de procariontas, ya que es un gen muy conservado en la evolución de estos microorganismos. Partiendo de su ubicuidad en las células procariontas y de la variabilidad de determinadas zonas de su secuencia génica, se ha generado un amplio catálogo de bases de datos públicas que permiten identificar en función de la secuencia las especies de la microbiota a estudio (este tipo de análisis se ha denominado en muchos trabajos como metagenómica). El paso crítico de este tipo de técnicas es la selección de

la muestra (qué microbiota estamos estudiando), la obtención de la misma (condiciones de obtención, tiempos, etc.) y sesgos técnicos debidos principalmente a la elección del método de extracción de ADN. Habitualmente, se emplea una combinación de métodos físicos y enzimáticos para la rotura de las paredes celulares de todos los microorganismos presentes en la muestra. Cabe recordar que se distinguen 2 grupos de procariontes en función de la composición de su membrana celular, Gram positivas y Gram negativas, distintas tanto en grosor como en composición, lo que supone el primero de los retos para alcanzar una rotura homogénea de ambos (y, por tanto, liberación del ADN).

Entre sus ventajas están la rapidez y la sencillez de la técnica, además de su gran sensibilidad y su capacidad para detectar microorganismos no cultivables. Entre las desventajas se puede destacar la complejidad del análisis de los resultados, que suponen un reto bioinformático. No obstante, en los últimos años las principales empresas dedicadas a la tecnología NGS han comercializado kits que permiten el estudio del 16S y su análisis, simplificando en gran parte este reto, al menos para un estudio descriptivo de las especies. Este tipo de aproximaciones permiten una rápida identificación de la estructura poblacional de la microbiota, pero omiten la viabilidad de los microorganismos encontrados y son dependientes de los sesgos de la propia técnica de NGS (en la amplificación o en la cobertura) y de la sensibilidad de la misma, que obliga a una metodología estricta, con una cobertura adecuada, que nos ofrezca seguridad en los datos obtenidos. En los últimos años se está mejorando el análisis de los datos y la información de las bases, permitiendo afinar más la clasificación taxonómica⁽¹⁴⁾.

1.5.2.2. Otras aproximaciones ómicas

A medida que el interés por el estudio de la microbiota se va expandiendo, se incrementa el número de técnicas que se van utilizando para su caracterización. Además de la mencionada secuenciación del 16S, se empieza a trabajar con la tecnología *shotgun* (secuenciación de fragmentos del ADN total de manera aleatoria), que permite identificar otras características de los microorganismos referidas a su función; el estudio del RNAseq para el estudio de la metatranscriptómica; cambios en los productos generados por la microbiota, estudiando el metametaboloma; o incluso el metaproteoma⁽¹⁴⁾. En la línea de caracterización se están usando también técnicas de imagen (resonancia magnética –RM– y RM funcional –fRM–) para caracterizar la estructura espacial del microbioma⁽¹⁵⁾.

La implementación de la información de todas estas técnicas requiere de una aproximación de biología de sistemas integrando los diferentes niveles de información obtenidos en cada estudio que nos permita, en un futuro cercano, obtener no solo una imagen clara de la estructura de la microbiota sino de su interacción con el resto del organismo.

1.6. EFECTOS DEL AMBIENTE

Como ya hemos comentado, los primeros años de vida son determinantes en la formación de la microbiota intestinal, siendo los factores que determinan su composición muy variados. La genética condiciona la composición de la microbiota, que además es modulada de forma importante por las condiciones ambientales. Entre los factores determinantes en el proceso de adquisición de la microbiota destaca la alimentación. De hecho, los principales cambios observados en la niñez coinciden con cambios en la

dieta, como son la introducción de alimentos sólidos o el destete. Una vez la microbiota alcanza su equilibrio, los cambios no son tan marcados como en la niñez; sin embargo, los efectos del ambiente siguen presentes. De hecho, la microbiota del individuo adulto puede sufrir alteraciones temporales o permanentes como consecuencia de factores como el sufrimiento de enfermedades, el tratamiento con antibióticos (antifúngicos), cambios prolongados en la dieta o situaciones de estrés.

La antibioterapia es uno de los factores que mayor impacto tiene en la microbiota, por lo que merece una revisión más detallada. El uso de antibióticos se dirige a la eliminación de un patógeno concreto responsable de producir una enfermedad infecciosa; sin embargo, el espectro de acción de los antibióticos, comúnmente dirigidos a estructuras o procesos metabólicos comunes entre varios microorganismos (pared bacteriana, síntesis de proteínas o replicación, y síntesis de ácidos nucleicos) es muy amplio. De esta forma, aproximadamente el 30% de las poblaciones bacterianas de nuestro intestino pueden verse afectadas por el consumo de antibióticos, provocando un rápido y significativo descenso en la riqueza y la diversidad de nuestra microbiota. Curiosamente, una vez termina el tratamiento antibiótico, la recuperación de la microbiota es, a menudo, muy similar a la original. Sin embargo, la antibioterapia también puede dar lugar a cambios en la microbiota que permanecen meses e incluso años, que, además, tienden a intensificarse a medida que aumenta la frecuencia de este tipo de tratamientos. El estudio del impacto de los antibióticos en la microbiota ha revelado que no solo afecta a la composición, sino también a su funcionalidad. Los cambios funcionales son más marcados que aquellos producidos en la composición microbiana y además se asemejan a los observados en situaciones de enfermedad⁽¹⁶⁾.

2. DISBIOSIS. MICROBIOTA EN LA ENFERMEDAD

La alteración de las condiciones de una microbiota “sana” puede originar situaciones de disbiosis que, si son intensas y/o se prolongan en el tiempo, pueden dar lugar a la aparición de diversas patologías. De manera parecida, las enfermedades, o los tratamientos, pueden alterar la composición de la microbiota produciendo la aparición de nuevos síntomas. Muchos de los trabajos descriptivos actuales no permiten discernir si la distinta composición de la microbiota es causa o consecuencia y, por tanto, deben enmarcarse dentro de los inicios del conocimiento sobre esta relación.

2.1. CONCEPTO

El término *disbiosis* empezó a utilizarse para describir los cambios producidos en la microbiota de personas “sanas” que, por lo general, se asocia con la aparición de enfermedades. La definición de disbiosis implica una descripción precisa de la composición y las características de la microbiota “sana”, algo muy complicado por las limitaciones técnicas actuales y por la enorme diversidad poblacional e individual. La microbiota del ser humano es un sistema dinámico muy marcado por los cambios que ha experimentado el hombre desde sus ancestros. Los cambios producidos en las últimas décadas en las sociedades occidentales han dado lugar a cambios permanentes en la microbiota, que para muchos científicos son (al menos en parte) responsables del aumento de

enfermedades crónicas, como la diabetes de tipo 2, la obesidad, las alergias e intolerancias alimentarias o las enfermedades inflamatorias intestinales⁽¹⁷⁾. Estos cambios han dado lugar a una reducción tanto de la transferencia vertical (aquella procedente de la madre durante la gestación y el parto) como horizontal (aquella procedente del ambiente) de los componentes de la microbiota. La transferencia vertical o madre-hijo se ha visto afectada principalmente por el gran aumento (injustificado en algunos casos) de los nacimientos por cesárea y tratamientos antibióticos en el periparto; mientras que la transferencia horizontal se ha visto alterada por las dietas ricas en azúcares, grasas y aditivos, y altamente procesadas, el aumento de la higiene, la amplia exposición a antibióticos y el estilo de vida sedentario y en ambientes cerrados.

Estos cambios se caracterizan, a grandes rasgos, por una pérdida de riqueza y diversidad, además de un creciente aumento de representantes del filo *Firmicutes* y reducción de aquellos del filo *Bacteroidetes*. El alcance de estos cambios es tal que ya se considera que algunos de los comensales comunes en la microbiota “ancestral” se pierden de generación en generación⁽¹⁷⁾. Estos factores dificultan el establecimiento de una diferenciación clara entre la microbiota “sana” y la disbiosis, que a menudo se hace en función de la presencia o ausencia de una sintomatología concreta (**Figura 3**).

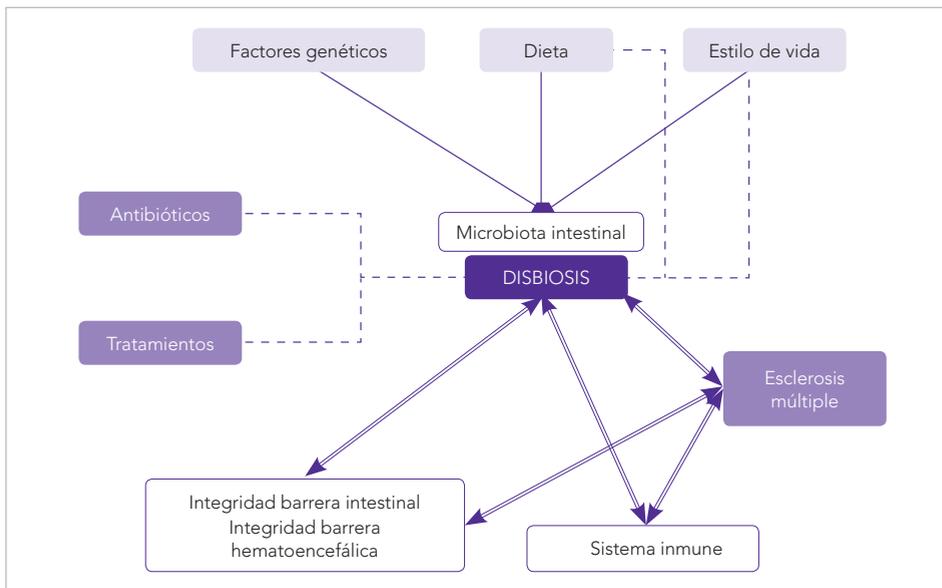


Figura 3. Esquema de relaciones entre los factores que influyen en la composición de la microbiota, en la posible disbiosis de la misma y cómo esta puede influir en diferentes procesos relacionados con la autoinmunidad y la esclerosis múltiple.

2.2. MICROBIOTA Y SISTEMA INMUNE

Los primeros años de vida constituyen un momento determinante en el desarrollo del sistema inmune y en la generación de respuestas frente a agentes externos y tolerancia frente a

aquellos que terminan formando parte del organismo. Aunque la respuesta inmune innata se encarga, al menos en parte, de la defensa frente a potenciales patógenos, la respuesta inmune adaptativa aporta un beneficio, siendo responsable de interacciones más sutiles (como las generadas con organismos comensales) o de la amplificación de la respuesta innata. La regulación de la respuesta adaptativa es más específica y tiene mayores consecuencias a largo plazo. El desarrollo de la respuesta inmune adaptativa requiere tanto la interacción con la microbiota como con la respuesta inmune innata. Por lo que la pérdida de microbiota limita por ambas vías las señales que recibe el sistema inmune adaptativo para su correcto desarrollo⁽¹⁷⁾. La interacción de la microbiota con el sistema inmune se da principalmente, pero no solo, en el tejido linfoide asociado al intestino (GALT, por sus siglas en inglés), en el que se produce la activación de las células y/o activación de la población TH17.

2.3. MICROBIOTA Y ESCLEROSIS MÚLTIPLE

La EM se define como una enfermedad crónica y desmielinizante del SNC, que se caracteriza por lesiones en la vaina de mielina que rodea los axones, causadas por un ataque inmunomediado. Afecta a casi 3 millones de personas en el mundo, unos 47.000 pacientes en España, y va aumentando en número de pacientes de manera constante. La EM es una enfermedad que debuta en la mayoría de los casos entre la segunda y la tercera décadas de la vida y que afecta en mayor medida a las mujeres (un 65% de las pacientes), con un importante coste sociosanitario derivado de la discapacidad que produce y de los altos costes farmacológicos asociados.

A pesar de los grandes esfuerzos que se han llevado a cabo desde el campo de la investigación en las últimas décadas, todavía no se ha conseguido entender los mecanismos por los que funciona esta compleja enfermedad. Se acepta que factores genéticos y ambientales interactúan para dar lugar a una mayor susceptibilidad y a diferentes formas de evolución, sin que se haya conseguido identificar un disparador de la patología.

Podemos entender la EM como una enfermedad que afecta a los 2 sistemas más complejos de nuestro organismo, el SNC y el sistema inmunológico. En este esquema se ha introducido en la última década un nuevo sistema que interactúa con ambos y que a todos los efectos es un órgano más de nuestro cuerpo: la microbiota intestinal. Numerosos estudios han remarcado la necesidad de una microbiota equilibrada en la salud y cómo la disbiosis de la misma puede estar en el origen de múltiples patologías.

En los últimos años, el estudio de la microbiota en relación con enfermedades neurológicas en general y con la EM en particular se ha intensificado. La manera más directa de estudiar la relación entre microbiota y EM es la caracterización de la misma en enfermos y en donantes sanos, buscando diferencias entre las distribuciones de las poblaciones microbianas entre ambos grupos. Este tipo de caracterización se ha realizado en varias poblaciones distintas y con diferentes metodologías. En estos estudios, las variables confundidoras pueden ser muchas, por lo que hay que intentar corregir los datos de la mejor manera posible (por dieta, población, etc.). Con esta intención se creó en 2015 el Consorcio Internacional para el Estudio del Microbioma (iMSMS, por sus siglas en inglés) que pretende estudiar la distribución de las poblaciones bacterianas mediante secuenciación del gen 16S en 2.000 pacientes y 2.000 controles. De este esfuerzo colaborativo (22 investigadores, 5 países) se espera una caracterización sólida en los diferentes tipos de

EM, que permita el diseño de nuevos estudios y un mayor conocimiento sobre la relación microbiota-EM que sin duda puede revolucionar el campo.

Hasta el momento actual, contamos con datos de 7 estudios que han analizado la relación entre la diversidad del microbioma y la EM en pacientes⁽¹⁸⁾, especificados en la **Tabla 1**⁽¹⁹⁻²⁵⁾.

Estos estudios revelan una disbiosis en la microbiota intestinal de enfermos de EM, pero también la necesidad de homogeneizar el diseño de los estudios en aras de obtener una relación de especies con la enfermedad más sólida. Otro tipo de aproximaciones se han centrado en el estudio de los metabolitos producidos por la microbiota en la EM, con interesantes resultados a nivel del metabolismo de aminoácidos, carbohidratos, lípidos, que apoyan la influencia de estos metabolitos (y por tanto de la microbiota productora de los mismos) en la patología⁽²⁶⁾.

A diferencia de lo que ocurre en otras enfermedades, no se observan diferencias de biodiversidad, únicamente unos cambios mínimos a nivel de filo (ligero aumento de la razón *Firmicutes/Bacteroidetes*) en la microbiota de los pacientes. Sin embargo,

Tabla 1. Tabla resumen de los trabajos más representativos en microbiota y esclerosis múltiple

Núm. pacientes	Controles	Géneros	Año	Ref.
7 (EMRR)	8	<i>Akkermansia</i> <i>Faecalibacterium</i> <i>Coprococcus</i>	2015	(19)
20 (EMRR)	50	<i>Eggerthella lenta</i> <i>Streptococcus thermophilus/salivarius</i> <i>Clostridia Cluster XIVa y IV</i> <i>Bacteroidetes</i>	2015	(20)
31 (EMRR)	36	<i>Pseudomonas</i> <i>Pedobacter</i> <i>Mycoplana</i> <i>Blautia</i>	2016	(21)
60 (EMRR)	43	<i>Akkermansia</i> <i>Methanobrevibacter</i> <i>Butyricimonas</i> <i>Paraprevotella</i> <i>Haemophilus</i> <i>Slackia</i>	2016	(22)
18 (EMRR) Pediátrica	17	<i>Bilophila</i> <i>Desulfovibrio</i> <i>Christensenellaceae</i> <i>Lachnospiraceae</i> <i>Ruminococcaceae</i>	2016	(23)
71 (EMRR)	71*	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Akkermansia muciniphila</i> <i>Eggerthella lenta</i>	2017	(24)
34 (22 EMRR, 7 EMSP, 3 SCA, 2 EMPP)	64 (gemelos monocigóticos)	<i>Akkermansia muciniphila</i> <i>Sutterella</i>	2017	(25)

* Controles pareados de individuos que viven en la misma casa

EMPP: esclerosis múltiple primariamente progresiva; EMRR: esclerosis múltiple recurrente remitente; EMSP: esclerosis múltiple secundariamente progresiva; SCA: síndrome clínicamente aislado

al considerar grupos taxonómicos menores, se evidencian diferencias entre pacientes y controles en los géneros *Akkermansia*, *Acinetobacter*, *Parabacteroides* y *Sutterella*. Estas diferencias resultan más evidentes cuando los pacientes estudiados no siguen tratamientos moduladores de la enfermedad⁽²⁵⁾. Determinados tratamientos, como interferón beta o acetato de glatirámico, parecen afectar a la composición de la microbiota de pacientes, revertiendo algunas de las alteraciones características de la enfermedad, como las que atienden a los géneros *Sutterella* y *Prevotella*, aumentadas en pacientes tratados frente a pacientes sin tratar y disminuidas en pacientes frente a controles⁽²²⁾; estos estudios suelen llevarse a cabo en pacientes con EM recurrente remitente en momentos de remisión.

Son varios los factores ambientales que potencian el riesgo de aparición de un nuevo brote, como el estrés, los niveles de vitamina D o determinadas infecciones víricas. Todos ellos parecen tener como eje conductor la modulación del sistema inmune. Sin embargo, se conoce que estos factores también tienen la capacidad de alterar la microbiota, que podría estar actuando como intermediario en la modulación del sistema inmune. Tremlett *et al.* estudiaron los cambios producidos en la microbiota de población pediátrica en el brote, observando la ausencia del filo *Fusobacteria* y aumentos del filo *Firmicutes* y las arqueas *Euryarchaeota*⁽²³⁾. Estos resultados sugieren que los brotes pueden estar asociados a cambios en un número limitado de taxones, manteniéndose los parámetros globales de la microbiota (como puede ser la biodiversidad), al igual que los cambios descritos en remisión; sin embargo, no se puede especificar si es causa o efecto de dichos brotes.

Otro tipo de aproximación a la influencia entre la microbiota y la EM es a través del modelo animal. En la EM se acepta como modelo estándar el modelo murino de encefalitis alérgica experimental (EAE). En 2011, trabajando con ratones *germ free* (sin microbiota en su intestino), se demostró que la microbiota intestinal es necesaria para poder generar este modelo⁽²⁷⁾, demostrando un papel fundamental de la microbiota en la respuesta autoinmune. Una vez repoblados dichos animales con microbiota, la EAE se pudo producir de manera normal. Ahondando en este mecanismo, recientemente se ha demostrado que en un modelo *germ free* de EAE espontáneo, el número de animales que desarrolla la enfermedad es muy diferente entre el grupo repoblado con microbiota de enfermos con EM, que en el grupo repoblado con microbiota de controles sanos⁽²⁵⁾. Estos interesantes estudios demuestran la enorme influencia de la composición de la microbiota en el desarrollo del modelo animal, generando la pregunta de cómo afecta esta composición en los pacientes y abriendo la duda sobre si esas diferencias en las poblaciones son causa o consecuencia de la enfermedad.

Los estudios *in vitro* con cultivos de leucocitos han analizado la interacción entre los representantes de géneros dominantes o minoritarios en EM, *Akkermansia muciniphila*, *Acinetobacter calcoaceticus* y *Parabacteroides distasonis*, y el sistema inmune. Estos estudios centran la modulación de la respuesta principalmente a través de los linfocitos T reguladores y demuestran que *A. calcoaceticus* y *A. muciniphila* favorecen la creación en un ambiente proinflamatorio, mientras que *P. distasonis*, microorganismo que se encuentra reducido en enfermos de EM, favorece el efecto contrario⁽²⁴⁾.

Asentándonos en los resultados obtenidos hasta ahora, es evidente que la microbiota desempeña un papel en la EM y que se comunica de alguna manera con el sistema inmune; sin embargo, los mecanismos de comunicación a través de los cuales se realiza esta regulación no están claramente caracterizados.

3. TRATAMIENTOS

La descripción de la microbiota y su relación con distintas patologías tiene como finalidad no solo el mayor conocimiento de la enfermedad sino la posibilidad de explorar nuevas vías de tratamiento de las mismas. Conocemos que las interacciones entre la microbiota y el cuerpo humano tienen lugar de forma bidireccional, es decir, existe una comunicación entre ambas partes. Sin embargo, se desconoce la naturaleza de estas señales y, por tanto, más aún su regulación. Esto dificulta estimar la eficacia de un tratamiento modulador de la microbiota.

3.1. PROBIÓTICOS

Entre los tratamientos moduladores más empleados hasta la fecha está el uso de probióticos (microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud del hospedador), prebióticos (ingredientes que favorecen el crecimiento de determinadas especies en la microbiota, confiriendo así beneficios a la salud) o combinaciones de ambos (simbióticos). Estos tratamientos tienen como finalidad recuperar una microbiota “sana” o las funciones de esta que se ven alteradas por la enfermedad. A pesar de la enorme diversidad de la microbiota y por tanto de la variedad de microorganismos que *a priori* podrían emplearse como probióticos, la gran mayoría de los disponibles en la actualidad se concentran en tan solo 2 géneros bacterianos, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. El uso preferencial de lactobacilos y bifidobacterias se debe, por una parte, a que se los considera avirulentos; de hecho, muchas especies gozan del estatus GRAS (*generally recognized as safe*) de la Food and Drug Administration (FDA) estadounidense y QPS (*qualified presumption of safety*) de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). Por otra parte, son los organismos más estudiados como probióticos y sus propiedades beneficiosas están contrastadas.

El estudio de la microbiota y su relación con la EM es todavía muy reciente. La falta de estudios estandarizados realizados en grandes poblaciones dificulta la comparación y unificación de resultados. Todo ello hace que todavía sean muy minoritarios los estudios moduladores llevados a cabo y estos en su mayoría son estudios piloto realizados en un número muy limitado de personas. Sin embargo, todo apunta a que estos estudios irán creciendo en los próximos años. Entre los trabajos realizados hasta la fecha destacan los llevados a cabo en el modelo murino de EM (EAE). El trabajo realizado por Lavasani *et al.* demuestra cómo la administración de varias cepas probióticas de lactobacilos (*Lactobacillus paracasei* DMS 13434, *Lactobacillus plantarum* DSM 15312 y *Lactobacillus plantarum* DSM 15313) previene o retrasa la aparición de EAE. Por otra parte, ensayan el uso de estas mismas cepas como tratamiento una vez desarrollada la enfermedad, observando una marcada mejora clínica cuando se administran las 3 cepas conjuntamente (Lavasani 2010). Recientemente, se ha publicado un estudio piloto en el que se lleva a cabo la administración del probiótico comercial VSL#3[®], que consiste en una mezcla de 8 cepas de los géneros *Streptococcus*, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, en pacientes de EM. A pesar del pequeño tamaño poblacional de este estudio (9 frente a 13 pacientes), pudo observarse una respuesta inmune antiinflamatoria y un aumento de los niveles de butirato durante el tratamiento (la modulación no se mantiene una vez se suprime el

tratamiento). El impacto de estos resultados en la mejora clínica de los pacientes de EM requiere de estudios adicionales para su verificación en una mayor cohorte⁽²⁸⁾.

Otros estudios han explorado diferentes vías de tratamiento, principalmente colonizando ratones *germ free* con poblaciones concretas de bacterias o administrando probióticos (*Bacteroides fragilis*, *Pediococcus acidilactici*). En casi todos los casos se ha detectado mejora clínica en los animales y modificación de la respuesta inmune, principalmente a través de las células T reguladoras (Treg) y la producción de interleucinas⁽²⁹⁾. En este modelo se está estudiando también el efecto de diferentes dietas en la respuesta clínica del modelo, iniciando una prometedora línea de estudio y de posible tratamiento a través de la dieta⁽³⁰⁾.

3.2. TRASPLANTE FECAL

Actualmente, el trasplante o transferencia fecal ha despertado un gran interés como método para modificar disbiosis microbianas. Se basa en la administración de una suspensión o un *pellet* deshidratado de heces obtenida de una persona “sana” a otra persona mediante sonda, colonoscopia o enema. Es decir, se transfiere la microbiota intestinal de una persona a otra, incluyendo no solo los microorganismos cultivables sino también los que actualmente no se pueden cultivar y que, en consecuencia, no se pueden administrar en forma de un probiótico convencional.

Estos tratamientos, aunque todavía controvertidos, presentan alta eficacia en el tratamiento de enfermedades muy difíciles de controlar, como es el caso de la infección recurrente por *Clostridium difficile*. Sin embargo, el trasplante fecal se enfrenta a problemas prácticos importantes. La extraordinaria complejidad microbiológica, inmunológica y bioquímica de las heces depende de numerosos factores que no podemos controlar ni estandarizar. Las heces pueden convertirse en fuente de sustancias nocivas o de microorganismos que pueden representar un problema para la salud a medio y largo plazo, sin descartar una posible respuesta inmune ante las nuevas cepas de microbiota. El concepto de comunidades microbianas mínimas puede ofrecer nuevas vías terapéuticas para modular la microbiota intestinal evitando los problemas de terapias como la transferencia fecal. Se trata de una idea novedosa y ambiciosa, cuya puesta en práctica requiere de un cuidado diseño y una laboriosa producción que probablemente se posponga todavía unos años en ser efectiva.

Recientemente, se ha descrito la eficacia de un sustituto de la microbiota intestinal, elaborado a partir de los cultivos puros de 33 especies bacterianas aisladas de heces de un único donante sano, para tratar casos de infección recurrente por *Clostridium difficile* en los que la antibioterapia había fracasado⁽³¹⁾. Este estudio pionero demostró, por primera vez, que una microbiota mínima diseñada en el laboratorio es capaz de curar infecciones resistentes a los antibióticos. Entre las ventajas de estos tratamientos destacan la posibilidad de controlar la composición de las mezclas de cepas, la garantía de la ausencia de sustancias nocivas y patógenos, y la posibilidad de producción estandarizada a escala industrial. La implementación de estas comunidades microbianas sintéticas en terapias de última generación sería de gran beneficio para los pacientes y, además, permitiría avanzar en nuestra comprensión del microbioma intestinal humano.

La investigación en el trasplante fecal en la EM está avanzando muy rápidamente, con 3 ensayos clínicos iniciados o pendientes de inicio en la base de datos de ensayos

clínicos del Instituto de Salud Americano (<https://clinicaltrials.gov>). Sin embargo, hasta que lleguen los resultados de los ensayos clínicos y se validen, conviene ser prudente en este tipo de tratamientos, ya que en algunos casos están siendo ofertados a través de páginas web en clínicas privadas sin fundamento científico detrás y con una nula evaluación de los posibles riesgos.

4. CONCLUSIONES

- El campo de investigación de la microbiota, como efector de la enfermedad, pero también como posible vía de tratamiento, está dando sus primeros pasos en la EM.
 - Los estudios colaborativos a través de consorcios y las mejoras en las técnicas de caracterización y de análisis de datos van a permitir una verdadera explosión de conocimiento en este campo durante la próxima década. La traslación de este tipo de información a la práctica clínica va a ser mucho más rápida que en otro tipo de aproximaciones más moleculares o basadas en fármacos.
 - La incorporación de toda esta información a nuestro concepto de EM nos obligará a generar nuevos modelos de enfermedad que integren la composición de la microbiota y su comunicación con el resto de los sistemas de nuestro organismo.
 - Esto supone un enorme y atractivo reto a nivel científico, con un vasto campo a explorar, a nivel clínico, incorporando los resultados a nuestras herramientas actuales y a nivel del propio paciente con una potencial capacidad de influir en su enfermedad a través de sus hábitos de vida.
 - Los estudios venideros en este campo tienen el claro potencial de cambiar nuestra manera de entender y de tratar la EM.
-

BIBLIOGRAFÍA

1. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biol.* 2016 Aug 19;14(8):e1002533. Disponible en: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pbio.1002533>.
2. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The Human Microbiome Project. *Nature.* 2007 Oct 18;449(7164):804-10. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17943116>.
3. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012 May 9;486(7402):222-7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22699611>.
4. Martín R, Jiménez E, Olivares M, Marín ML, Fernández L, Xaus J, et al. *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother-child pair. *Int J Food Microbiol.* 2006 Oct 15;112(1):35-43. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16843562>.
5. Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Sci Transl Med.* 2014 May 21;6(237):237ra65-237ra65. Disponible en: <http://stm.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/scitranslmed.3008599>.
6. Dethlefsen L, McFall-Ngai M, Relman DA. An ecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease. *Nature.* 2007 Oct 18;449(7164):811-8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17943117>.
7. El Aidy S, Dinan TG, Cryan JF. Gut Microbiota: The Conductor in the Orchestra of Immune-Neuroendocrine Communication. *Clin Ther.* 2015 May 1;37(5):954-67. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25846319>.
8. Guarner F, Malagelada J-R. Gut flora in health and disease. *Lancet.* 2003 Feb 8;361(9356):512-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12583961>.
9. Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol.* 2013 Apr;21(4):167-73. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23332725>.
10. Schéle E, Grahnmemo L, Anesten F, Hallén A, Bäckhed F, Jansson J-O. Regulation of body fat mass by the gut microbiota: Possible mediation by the brain. *Peptides.* 2016 Mar;77:54-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25934163>.
11. Di Mauro A, Neu J, Riezzo G, Raimondi F, Martinelli D, Francavilla R, et al. Gastrointestinal function development and microbiota. *Ital J Pediatr.* 2013 Feb 24;39(1):15. Disponible en: <http://ijponline.biomedcentral.com/articles/10.1186/1824-7288-39-15>.
12. Weng M, Walker WA. The role of gut microbiota in programming the immune phenotype. *J Dev Orig Health Dis.* 2013 Jun 8;4(3):203-14. Disponible en: http://www.journals.cambridge.org/abstract_S2040174412000712.
13. Greub G. Culturomics: a new approach to study the human microbiome. *Clin Microbiol Infect.* 2012 Dec;18(12):1157-9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23148445>.
14. Peñalver Bernabé B, Cralle L, Gilbert JA. Systems biology of the human microbiome. *Curr Opin Biotechnol.* 2018 Jun 13;51:146-53. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29453029>.

15. Boursi B, Werner TJ, Gholami S, Houshmand S, Mamtani R, Lewis JD, et al. Functional imaging of the interaction between gut microbiota and the human host: a proof-of-concept clinical study evaluating novel use for 18F-FDG PET-CT. *PLoS One*. 2018 Feb 15;13(2):e0192747. Disponible en: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0192747>.
16. Pérez-Cobas AE, Gosalbes MJ, Friedrichs A, Knecht H, Artacho A, Eismann K, et al. Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a multi-omic approach. *Gut*. 2013 Nov;62(11):1591-601. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23236009>.
17. Blaser MJ. The theory of disappearing microbiota and the epidemics of chronic diseases. *Nat Rev Immunol*. 2017 Jul 27;17(8):461-3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28749457>.
18. Pröbstel AK, Baranzini SE. The Role of the Gut Microbiome in Multiple Sclerosis Risk and Progression: Towards Characterization of the “MS Microbiome”. *Neurotherapeutics*. 2017 Nov 16;15(1):126-34. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s13311-017-0587-y>.
19. Cantarel BL, Waubant E, Chehoud C, Kuczynski J, DeSantis TZ, Warrington J, et al. Gut microbiota in multiple sclerosis: possible influence of immunomodulators. *J Investig Med*. 2015 Jun;63(5):729-34. Disponible en: <http://jim.bmj.com/lookup/doi/10.1097/JIM.000000000000192>.
20. Miyake S, Kim S, Suda W, Oshima K, Nakamura M, Matsuoka T, et al. Dysbiosis in the Gut Microbiota of Patients with Multiple Sclerosis, with a Striking Depletion of Species Belonging to Clostridia XIVa and IV Clusters. *PLoS One*. 2015 Jan;10(9):e0137429. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4569432&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
21. Chen J, Chia N, Kalari KR, Yao JZ, Novotna M, Soldan MMP, et al. Multiple sclerosis patients have a distinct gut microbiota compared to healthy controls. *Sci Rep*. 2016 Sep 27;6(1):28484. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/srep28484>.
22. Jangi S, Gandhi R, Cox LM, Li N, von Glehn F, Yan R, et al. Alterations of the human gut microbiome in multiple sclerosis. *Nat Commun*. 2016 Jun 28;7:12015. Disponible en: <http://www.nature.com/doi/10.1038/ncomms12015>.
23. Tremlett H, Fadrosch DW, Faruqi AA, Hart J, Roalstad S, Graves J, et al. Gut microbiota composition and relapse risk in pediatric MS: A pilot study. *J Neurol Sci*. 2016 Apr;363:153-7. Disponible en: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022510X16301071>.
24. Cekanaviciute E, Yoo BB, Runia TF, Debelius JW, Singh S, Nelson CA, et al. Gut bacteria from multiple sclerosis patients modulate human T cells and exacerbate symptoms in mouse models. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Oct 3;114(40):10713-8. Disponible en: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1711235114>.
25. Berer K, Gerdes LA, Cekanaviciute E, Jia X, Xiao L, Xia Z, et al. Gut microbiota from multiple sclerosis patients enables spontaneous autoimmune encephalomyelitis in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Oct 3;114(40):10719-24. Disponible en: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1711233114>.
26. Dopkins N, Nagarkatti PS, Nagarkatti M. The role of gut microbiome and associated metabolome in the regulation of neuroinflammation in multiple sclerosis and its implications in attenuating chronic inflammation in other inflammatory and autoimmune disorders. *Immunology*. 2018 Feb 2. Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/imm.12903>.
27. Berer K, Mues M, Koutrosos M, Rasbi Z Al, Boziki M, Johner C, et al. Commensal microbiota and myelin autoantigen cooperate to trigger autoimmune demyelination. *Nature*. 2011 Nov 26;479(7374):538-41. Disponible en: <http://www.nature.com/articles/nature10554>.

28. Tankou SK, Regev K, Healy BC, Tjon E, Laghi L, Cox LM, et al. A probiotic modulates the microbiome and immunity in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2018 Jun;83(6):1147-61. doi: 10.1002/ana.25244
29. Castillo-Álvarez F, Marzo-Sola ME. Role of intestinal microbiota in the development of multiple sclerosis. *Neurologia*. 2017 Apr;32(3):175-84. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26383059>.
30. Libbey JE, Sánchez JM, Doty DJ, Sim JT, Cusick MF, Cox JE, et al. Variations in diet cause alterations in microbiota and metabolites that follow changes in disease severity in a multiple sclerosis model. *Benef Microbes*. 2018 Jan 30;1-20. Disponible en: <http://www.wageningenacademic.com/doi/10.3920/BM2017.0116>.
31. Petrof EO, Gloor GB, Vanner SJ, Weese SJ, Carter D, Daigneault MC, et al. Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: “RePOOPulating” the gut. *Microbiome*. 2013 Jan 9;1(1):3. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24467987>.

MERCK

INNOVEMOS
juntos por la
esclerosis
Múltiple

