

Metabolitos de la microbiota intestinal implicados en el trastorno del espectro autista

Metabolites of the gut microbiota involved in the autism spectrum disorder

Andreo-Martínez, P,^{a, c}; García-Martínez^a, N; Sánchez-Samper^b, E.P;

Quesada-Medina^c, J; MacFabe^d, D.

^aDepartment of Agricultural Chemistry. University of Murcia. Murcia. Spain.

^bDepartment of Food Technology, Nutrition and Bromatology. University of Murcia. Murcia. Spain.

^cDepartment of Chemical Engineering. University of Murcia. Murcia. Spain

^dThe Kilee Patchell-Evans Autism Research Group, Departments of Psychology (Neuroscience) and Psychiatry, Division of Developmental Disabilities, University of Western Ontario, Ontario, Canada

Correspondencia: Pedro Andreo-Martínez. pam11@um.es

Resumen: En los últimos años, ha habido un aumento de los estudios que buscan comprender la relación existente entre el microbiota intestinal (MI) con el trastorno del espectro autista (TEA), que debe producirse a través del eje microbiota-intestino-cerebro. A pesar de que los distintos autores señalan que los cambios encontrados en distintos filos, familias y géneros bacterianos están implicados en el TEA, no hay consenso científico a día de hoy. Algunos autores apuntan a la posible relación existente entre dichas poblaciones bacterianas con ciertos productos de excreción o metabolitos como el ácido propiónico ya que aparecen con frecuencia en niños con TEA. Aunque en los últimos años la MI comienza a acumular evidencia científica, en términos de neurociencia, el estudio de la metabolómica asociada a la misma y los mecanismos mediante los cuales estos metabolitos pueden influir en la aparición y desarrollo del TEA aún permanece en sus primeros estadios.

Palabras clave: Trastorno del Espectro Autista, Microbiota intestinal, Eje microbiota-intestino-cerebro, Metabolómica.

Abstract: In recent years, there has been an increase in studies that seek to understand the relationship between gut microbiota (GM) with the behavior of people with autism spectrum disorders (ASD), which must occur through the microbiota-gut-brain axis. Although the different authors point out that the changes found in different phyla, families and bacterial genera are involved in ASD, there is no scientific consensus to date. Some authors point to the possible relationship between these bacterial populations with certain products of excretion or metabolites such as propionic acid since they frequently appear in children with ASD. Although in recent years the GM has begun to accumulate scientific evidence, in terms of neuroscience, the study of the metabolomics associated with it and the mechanisms by which these metabolites can influence the appearance and development of ASD remains in its first stages.

Keywords: Autism Spectrum Disorder, Gut microbiota, Microbiota-gut-brain axis, Metabolomic.

1. Introduction

Autism spectrum disorder (ASD) is a neurodevelopmental disorder that manifests during the first three years of life and persists throughout the individual's life. ASD is characterized by the presence of persistent deficits in social interaction and oral communication (communicative socio-emotional and non-verbal reciprocity in social interaction in multiple contexts); and behavior patterns restricted and repetitive that can be mild or severe [1]. ASD affects one in every 68 people in USA and maybe one in 30 in Korea, being more prevalent in men (4:1) [2]. In Spain the prevalence data of ASD are lower where it is estimated that 8 out of 10,000 children suffer from autism [3]. In this sense, the scientific community tries to discover the

origin of ASD and, apparently, the complex interactions between genetic, epigenetic and environmental factors can contribute to the development and expression of ASD [2].

At the brain level, one of the possible genetic mechanisms for the appearance of ASD has recently been elucidated in Canada. Specifically, a direct relationship between the mutation of the GRIN2B gene, the production of a protein, the formation of defective neurons and the manifestation of autism has been found [4]. However, there is still much to be studied in terms of the mechanisms of interactions between the other factors that contribute to the development and expression of ASD.

One of the most studied hypotheses, which can include most of the factors responsible for the appearance and development of ASD, and many other diseases, postulates that a dysbiosis of the gut microbiota (GM), together with the metabolites that it produces, can be responsible for the origin of ASD [5]. This concept is not new since there is enough scientific evidence regarding the relationship between a dysbiotic GM and the development of different diseases such as intestinal inflammation associated with the pathogenesis of obesity, type 2 diabetes mellitus [6], and other psychological disorders where ASD is included [7]. A proven example of the relationship between GM and ASD occurred in Chicago (USA) at the beginning of the present millennium, where a child suffering from a serious ear infection was given broad-spectrum antibiotics as a treatment. After 3-4 months of treatment the child began to show the typical symptoms of autism, being diagnosed as autistic later. The explanation given to the appearance of ASD is based on the fact that antibiotics eradicated most of the GM, except those resistant microorganisms capable of forming spores and secreting toxic metabolites such as those of the genus *Clostridium*. After the application of specific antibiotics for *Clostridium* such as vancomycin or metronidazole, the autistic symptoms of the child improved in a very remarkable way, contrasted with studies performed on more ASD children later [8, 9]. However, chronic treatment with antibiotics is still under debate by the scientific community.

The GM encompasses the set of bacteria that inhabit the intestine, being in a symbiotic relationship both commensal and mutualism. GM represents about 99% of the complete human microbiome [10], weighs approximately 1 kg (about 9.9 million bacterial genes) [11], and is composed of: 92.9% bacteria, 0.5% eukaryotes, 0.8% archaea and 5.8% viruses [12].

Bacteria can play an important role in the production of several metabolites such as short-chain fatty acids (SCFA), free amino acids (FAA) and gaseous molecules. These metabolites can induce effects on the gut, brain and behavior [2] through the so-called microbiota-gut-brain axis whose character is bidirectional. In the brain-GM direction, the central nervous system (CNS) exerts control over the composition of the GM through secreted peptides at the time of satiety and, therefore, affect the availability of nutrients. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis releases cortisol that regulates intestinal motility and integrity. Intestinal epithelial cells secrete mucin that is regulated by immune and neuronal pathways, exerting control over microbial populations within the intestine. In the GM-brain direction, GM has been shown to control CNS activities through a variety of neuronal, endocrine, immune, and metabolic mechanisms [13, 14]. Specifically, certain metabolites activate immune cells in the brain called microglia and astrocytes, which mediate responses to inflammation in the CNS in mice with autoimmune disease [15]. They can also produce their effects through biochemical, immunological and neuroendocrine mechanisms that involve endogenous and microbial modulators and transmitters [10].

One of the most studied metabolites produced by GM is propionic acid (PPA). The PPA is found in the intestine along with other SCFAs such as acetate and butyrate. These SCFAs are produced by enteric bacteria such as *Clostridia*, *Desulfovibrio*, and *Bacteroidetes* after the fermentation of carbohydrates and some dietary amino acids in the intestinal lumen. PPA is a weak organic acid that can be found in ionized

and non-ionized forms at physiological pH, which allows it to easily cross the intestinal barrier, enter the bloodstream and be metabolized, mainly, in the liver. It is also able to cross the blood-brain barrier and reach the CNS. Specifically, the PPA accesses the CNS through transporters of monocarboxylates in the intestinal lumen and in the cerebrovascular endothelium, which actively transport many carboxylic acids, particularly PPA and ketones. PPA is also a specific ligand of many SCFA receptors coupled to G proteins (GPR41, 43). PPA and other SCFAs are absorbed by glial and, to a lesser extent, by neurons once they reach the CNS, where they are thought to comprise the major source of cellular metabolism energy, particularly during early brain development. APP and other SCFAs affect various physiological processes such as cell signaling, synthesis and release of neurotransmitters, production of free radicals, mitochondrial function, lipid metabolism, immune function, gap junction synchronization, maintenance of intracellular pH, and modulation of gene expression through histone phosphorylation and acetylation [16].

The relationship between ASD and PPA has recently been demonstrated using an animal model, where PPA was injected directly into the brain of rats, inducing repetitive and antisocial behaviors that were reversible after approximately 30 min. The potential mechanisms for these rapidly inducible and reversible behaviors are complex and include SCFAs-mediated effects such as improvement in the release of calcium-dependent glutamate in astrocytes, release of serotonin and dopamine, inhibition of neurotransmitter receptors, gamma-aminobutyric acid, activation of receptors coupled to specific G proteins of SCFAs, increased sensitivity of the glutamate receptor, increased catecholamine synthesis, intracellular acidification, mitochondrial dysfunction and gap junction closure [16].

2. Objective

The objectives of the present work are to provide current information on the correlation between the metabolites produced by the gut microbiota, mainly short chain fatty acids, found in feces of individuals with ASD and current treatments of autism that take into account the modification of the intestinal microbiota.

3. Discussion

3.1 Gut microbiota and short chain fatty acids

Although there is increasing scientific papers studying the metabolites produced by GM and its relationship with ASD, these are still rare in humans so that data can be obtained from these studies they are also scarce. Specifically, a review study conducted by the authors of the present work (not yet published) has identified 18 articles, published in the last 6 years, that study the GM of autistic individuals compared to their respective control groups. Of the 18 articles found, 11 of them studied some types of metabolites or expression of genes related to the GM, both in feces or intestinal epithelium and in blood or urine, such as calprotectin, oxytocin, serotonin, isopropanol or p-cresol. However, only one of them found correlations between SCFA and GM in feces of ASD people.

It is about the study carried out by De Angelis, Piccolo [17] where both GM and some metabolites that this produces [FAA and 82 volatile compounds] in the faeces of 10 ASD children was compared to both GM and some metabolites that this produces of the faeces of 10 healthy children, with an age between 4 and 10 years. Specifically, an increase of bacteria of the genus *Clostridium* was found in ASD children that was

positively correlated with methyl esters of acetic, methyl, butanoic and pentanoic acids, together with some indoles ($r = 1.0$, $p < 0.05$). In this sense, it is known that bacteria of the family *Clostridiaceae* are a group of bacteria that also synthesize phenols, p-cresol, isopropanol or certain indole derivatives that are potentially toxic to humans and they have also been related to ASD.

In this same study, bacteria of the genera *Faecalibacterium*, *Ruminococcus* and *Bifidobacterium* were less abundant, generally, in ASD children that were positively correlated with total SCFAs ($r = 1.0$; $p < 0.05$). Among the bacteria of the genus *Faecalibacterium*, *Faecalibacterium prausnitzii*, belonging to the family *Ruminococcaceae*, is one of the largest producers of butyric acid. The high prevalence of bacteria of the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* is a biological marker of a healthy GM in breastfeeding babies. Both bacterial genera fulfill important probiotic functions in the gut, including the inhibition of pathogenic bacteria by competitive exclusion and/or the production of antimicrobial agents. Bacteria of the genus *Bifidobacterium* appear shortly after birth and, in a matter of weeks, represent the dominant microorganism in the gut. It has been shown that probiotics improve the symptoms of irritable bowel syndrome (IBS), abdominal swelling, abdominal pain and flatulence, and are suggested as a possible intervention to improve the behavioral problems associated with ASD since they improve gastrointestinal discomfort.

Finally, it was also found that the prevalence of *Bacteroides* was greater in ASD children which was positively correlated with total FAA, ammonia and PPA ($r = 1.0$; $p < 0.05$). In general, a greater number of *Bacteroidetes* is found in faecal samples of children affected by gastrointestinal inflammatory diseases and ASD. In this regard, it is also known that *Bacteroides fragilis* is producing APP with other SCFA and, as has been discussed above, the APP shows neurobiological effects in rodents. In addition, this bacterium also synthesizes large amount of lipopolysaccharides, this being an important factor of bacterial virulence.

3.2 Present and future perspectives

The existence of marked cultural and dietary differences with respect to the composition of the GM around the world [18] should be taken into consideration when carrying out scientific studies mainly because the definition of a normalized GM is a complicated task and the comparative data between different populations should be taken with caution.

Regarding the possible treatments of ASD, there is an increasing scientific consensus that treatments based on the GM restoration of people with autism are the lines of research that should be followed. These treatments are diverse among those that can be mentioned: the treatment with antibiotics and/or antifungals to reduce specific components of the GM; the transfer of GM from healthy donors to individuals with ASD since it has been shown to improve gastrointestinal and autistic symptoms; treatment with helminths because modern civilization is thought to have caused them to disappear from the gut causing changes in the immune system; treatment with probiotics to favor the growth of beneficial bacteria; and dietary treatments, including ingestion of unprocessed and fermented food, treatment with digestive enzymes or administration of vitamins [5]. Regarding dietary treatments, the recommendations aim to obtain the necessary carbohydrates from raw vegetables, with a high inulin content such as artichoke [19], instead of foods rich in refined carbohydrates.

Finally, the best understanding of the relationship between GM and ASD necessarily involves the study of the biochemical mechanisms that occur at the mitochondrial level. In this sense, future studies should look

for possible correlations between: GM, metabolites in feces, metabolites in urine, metabolites in blood and gene expressions of the main known metabolic pathways, both in animal and human models.

1. Introducción

El trastorno del espectro autista (TEA) es un trastorno del neurodesarrollo que se manifiesta durante los tres primeros años de vida y que persiste durante toda la vida del individuo. El TEA se caracteriza por la presencia de déficits persistentes en la interacción social y en la comunicación oral (reciprocidad comunicativa socioemocional y no verbal en la interacción social en contextos múltiples); y patrones de comportamiento restringidos y repetitivos que pueden ser leves o agudos [1]. El TEA afecta a uno de cada 68 personas en Estados Unidos y puede que a uno de cada 30 en Korea, siendo más prevalente en hombres (4:1) [2]. En España los datos de prevalencia del TEA son menores donde se estima que 8 de cada 10.000 niños padecen autismo [3]. En este sentido, la comunidad científica trata de descubrir el origen del autismo y, al parecer, las interacciones complejas entre factores genéticos, epigenéticos y ambientales pueden contribuir al desarrollo y expresión del TEA [2].

Uno de los posibles mecanismos genéticos de aparición del TEA, a nivel cerebral, ha sido elucidado recientemente en Canadá. Concretamente, ha sido encontrada una relación directa entre la mutación del gen GRIN2B, la producción de una proteína, la formación de neuronas defectuosas y la manifestación del autismo [4]. Sin embargo, todavía queda mucho por estudiar en cuanto a los mecanismos de las interacciones entre los demás factores que contribuyen al desarrollo y expresión del TEA.

Una de las hipótesis más estudiadas, que puede englobar a la mayoría los factores responsables de la aparición y el desarrollo del TEA, y otras muchas enfermedades, postula que una disbiosis de la microbiota intestinal (MI), junto con los metabolitos que esta produce, puede ser responsable del origen del TEA [5]. Este concepto no es nuevo ya que existe bastante evidencia científica en cuanto a la relación entre una MI disbiótica y el desarrollo de diferentes enfermedades como la inflamación intestinal asociada a la patogénesis de la obesidad, la diabetes mellitus tipo 2 [6], y otros trastornos psicológicos donde se incluye el TEA [7]. Un ejemplo constatado de la relación entre la MI y el autismo se produjo en Chicago (USA) a los inicios del presente milenio, donde a un niño que sufría una grave infección de oído se le administraron antibióticos de amplio espectro como tratamiento. Tras 3-4 meses de tratamiento el niño comenzó a mostrar los síntomas típicos del autismo, siendo diagnosticado como autista más tarde. La explicación dada a este hecho está basada en que los antibióticos erradicaron la mayor parte de la MI, excepto aquellos microorganismos resistentes capaces de formar esporas y secretar metabolitos tóxicos como los del género *Clostridium*. Tras la aplicación de antibióticos específicos para *Clostridium* como vancomicina o metronidazol los síntomas autistas del niño mejoraron de forma muy notable, contrastado con estudios realizados a más niños autistas posteriormente [8, 9]. No obstante, el tratamiento crónico con antibióticos está todavía en debate por la comunidad científica.

La MI engloba al conjunto de bacterias que habitan en el intestino, encontrándose en una relación tanto de tipo comensal simbiótica como de mutualismo simbiótico. La MI representa alrededor del 99 % del microbioma humano completo [10], pesa aproximadamente 1 kg (alrededor de unos 9,9 millones de genes bacterianos) [11], y está compuesta por: 92,9 % bacterias, 0,5 % eucariotas, 0,8 % archaeas y 5,8 % virus [12].

Las bacterias pueden desempeñar un papel importante en la producción de varios metabolitos tales como ácidos grasos de cadena corta (AGCC), aminoácidos libres (AAL) y moléculas gaseosas. Estos metabolitos pueden inducir efectos sobre el intestino, el cerebro y el comportamiento [2] a través del llamado eje microbiota-intestino-cerebro cuyo carácter es bidireccional. En la dirección cerebro-MI, el sistema nervioso central (SNC) ejerce control sobre la composición de la MI a través de péptidos segregados en el momento de la saciedad y, por lo tanto, afectan la disponibilidad de nutrientes. El eje hipotalámico-hipofisario-adrenal libera cortisol que regula la motilidad e integridad intestinal. Las células epiteliales intestinales segregan mucina que es regulada por vías inmunes y neuronales, ejerciendo control sobre las poblaciones microbianas dentro del intestino. En la dirección MI-cerebro, se ha demostrado que la MI controla actividades del SNC a través de una variedad de mecanismos neuronales, endocrinos, inmunes, y metabólicos [13, 14]. Concretamente, ciertos metabolitos activan las células inmunes en el cerebro llamadas microglia y astrocitos, que median las respuestas a la inflamación en el SNC en ratones con enfermedad autoinmune [15]. También pueden producir sus efectos a través de mecanismos bioquímicos, inmunológicos y neuroendocrinos que implican moduladores y transmisores endógenos y microbianos [10].

Uno de los metabolitos producidos por la MI más estudiados es el ácido propiónico (APP). El APP se encuentra en el intestino junto con otros AGCC como el acetato y el butirato. Estos AGCC son producidos por bacterias entéricas tales como *Clostridia*, *Desulfovibrio*, y *Bacteroidetes* después de la fermentación de carbohidratos y algunos aminoácidos de la dieta en la luz intestinal. El APP es un ácido orgánico débil que puede encontrarse en las formas ionizada y no ionizada a pH fisiológico, lo que le permite cruzar fácilmente la barrera intestinal, pasar al torrente sanguíneo y ser metabolizado, principalmente, en el hígado. También es capaz de cruzar la barrera hematoencefálica (BHE) y alcanzar el SNC. Concretamente, el APP accede al SNC a través de transportadores de monocarboxilatos en la luz intestinal y en el endotelio cerebrovascular, que transportan activamente muchos ácidos carboxílicos, particularmente APP y cetonas. El APP también es un ligando específico de muchos receptores de AGCC acoplados a proteínas G (GPR41, 43). El APP y otros AGCC son absorbidos por la glía y, en menor medida, por las neuronas una vez que alcanzan el SNC, donde se piensa que comprenden la mayor fuente de energía del metabolismo celular, particularmente durante el desarrollo temprano del cerebro. El APP y otros AGCC afectan a diversos procesos fisiológicos tales como la señalización celular, síntesis y liberación de neurotransmisores, producción de radicales libres, función mitocondrial, metabolismo lipídico, función inmune, sincronización de unión gap, mantenimiento del pH intracelular, y la modulación de la expresión génica a través de la fosforilación y acetilación de histonas [16].

La relación entre el TEA y el APP ha sido demostrada recientemente utilizando un modelo animal, donde se inyectó APP directamente al cerebro de ratas, induciendo comportamientos repetitivos y antisociales que fueron reversibles después de aproximadamente 30 min. Los mecanismos potenciales para estos comportamientos rápidamente inducibles y reversibles son complejos e incluyen efectos mediados por AGCC tales como mejora en la liberación de glutamato dependiente de calcio en los astrocitos, liberación de serotonina y dopamina, inhibición de los receptores neurotransmisor ácido gamma-aminobutírico, activación de receptores acoplados a proteínas G específicos de AGCC, aumento de la sensibilidad del receptor de glutamato, incremento en la síntesis de catecolamina, acidificación intracelular, disfunción mitocondrial y cierre de uniones gap [16].

2. Objetivo

Los objetivos del presente trabajo son proporcionar información actual sobre la correlación existente entre los metabolitos producidos por la microbiota intestinal, principalmente ácidos grasos de cadena corta, encontrados en heces de individuos con TEA y los tratamientos actuales del autismo que tienen en cuenta la modificación de la microbiota intestinal.

3. Discusión

3.1 Microbiota intestinal y ácidos grasos de cadena corta

Aunque existe un incremento de trabajos científicos que estudian los metabolitos producidos por la MI y su relación con el TEA, estos todavía son escasos en humanos por lo que los datos que se pueden obtener de esos estudios también son escasos. Concretamente, un estudio de revisión realizado por los autores del presente trabajo (pendiente de ser publicado) ha identificado 18 artículos, publicados en los últimos 6 años, que estudian la MI de individuos autistas comparada con sus respectivos grupos control. De los 18 artículos encontrados, 11 estudiaban algunos tipos de metabolitos o expresión de genes relacionados con la microbiota intestinal, tanto en heces o epitelio intestinal como en sangre u orina, tales como calprotectina, oxitocina, serotonina, isopropanol o p-cresol. Sin embargo, solo uno de ellos encontró correlaciones entre AGCC y la MI en heces de individuos autistas.

Se trata del estudio realizado por De Angelis, Piccolo [17] donde se comparó la MI y algunos metabolitos que esta produce [AAL y 82 compuestos volátiles] de las heces de 10 niños autistas con la MI y los correspondientes metabolitos de las heces de 10 niños sanos, con una edad comprendida entre 4 y 10 años. Específicamente se encontró un aumento de bacterias del género *Clostridium* en los niños autistas que se correlacionó positivamente con ésteres metílicos de los ácidos acético, metílico, butanoico y pentanoico, junto con algunos indoles ($r = 1,0$; $p < 0,05$). En este sentido, es sabido que bacterias de la familia *Clostridiaceae* son un grupo de bacterias que también sintetizan fenoles, p-cresol, isopropanol o ciertos derivados del indol que son potencialmente tóxicos para los humanos y también han sido relacionados con el TEA.

En este mismo estudio, bacterias de los géneros *Faecalibacterium*, *Ruminococcus* y *Bifidobacterium* fueron menos abundantes, de forma general, en niños con TEA que se correlacionaron positivamente con AGCC ($r = 1,0$; $p < 0,05$). De entre las bacterias del género *Faecalibacterium*, la bacteria *Faecalibacterium prausnitzii*, perteneciente a la familia *Ruminococcaceae*, es una de las mayores productoras de ácido butírico. La alta prevalencia de bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* es un marcador biológico de una MI sana en bebés lactantes. Ambos géneros bacterianos cumplen importantes funciones probióticas en el intestino, incluida la inhibición de bacterias patógenas por exclusión competitiva y/o la producción de agentes antimicrobianos. Las bacterias del género *Bifidobacterium* aparecen poco después del nacimiento y, en cuestión de semanas, representa el microorganismo dominante en el intestino. Se ha demostrado que los probióticos mejoran los síntomas del síndrome del colon irritable, hinchazón abdominal, dolor abdominal y flatulencia, y son sugeridas como una posible intervención para mejorar los problemas de comportamiento asociados con el TEA ya que mejoran la incomodidad gastrointestinal.

Por último, también se encontró que la prevalencia de bacterias del género *Bacteroides* fue mayor en niños con TEA, correlacionándose positivamente con AAL, amoniaco y APP ($r = 1.0$; $p < 0,05$). De forma general, un mayor número de *Bacteroidetes* es encontrado en muestras fecales de niños afectados por enfermedades inflamatorias gastrointestinales y TEA. En este sentido, también es sabido que *Bacteroides fragilis* es productora de APP junto con otros AGCC y, como ha sido comentado anteriormente, el APP muestra efectos neurobiológicos en roedores. Además, esta bacteria también sintetiza gran cantidad de lipopolisacáridos, siendo esto un importante factor de virulencia bacteriana.

3.2 Perspectivas presentes y futuras

La existencia de marcadas diferencias culturales y dietéticas con respecto a la composición de la MI alrededor del mundo [18] debe ser tomado en consideración cuando se realicen estudios científicos debido principalmente a que la definición de una MI normalizada es una tarea complicada y los datos comparativos entre las diferentes poblaciones deben ser tomados con cautela.

En cuanto a los posibles tratamientos del TEA, existe cada vez más consenso científico en que los tratamientos basados en la restauración de la MI de individuos con autismo son las líneas de investigación que se deberían seguir. Estos tratamientos son diversos entre los que se pueden citar: el tratamiento con antibióticos y/o antifúngicos para reducir componentes específicos de la MI; la transferencia de MI de donadores sanos a individuos con TEA ya que ha sido demostrado que mejora los síntomas gastrointestinales y autistas; el tratamiento con helmintos debido a que se piensa la civilización moderna ha hecho que estos desaparezcan del intestino provocando cambios en el sistema inmune; el tratamiento con probióticos para favorecer el crecimiento de bacterias beneficiosas; y los tratamientos dietéticos, entre los que se incluyen la ingesta de comida no procesada y fermentada, el tratamiento con enzimas digestivas o la administración de vitaminas [5]. En cuanto a los tratamientos dietéticos, las recomendaciones apuntan a obtener los carbohidratos necesarios de vegetales sin procesar, con alto contenido en inulina como lo es la alcachofa [19], en lugar de alimentos ricos en carbohidratos refinados.

Finalmente, el mejor entendimiento sobre la relación existente entre la MI y el autismo pasa necesariamente por el estudio de los mecanismos bioquímicos que ocurren a nivel mitocondrial. En este sentido, los futuros estudios deberían buscar posibles correlaciones entre: MI, metabolitos en heces, metabolitos en orina, metabolitos en sangre y expresiones génicas de las principales rutas metabólicas conocidas, tanto en modelos animales como humanos.

6. References/Referencias

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-5). USA: American Psychiatric Publishing; 2013.
2. MacFabe DF. Enteric short-chain fatty acids: microbial messengers of metabolism, mitochondria, and mind: implications in autism spectrum disorders. *Microb Ecol Health Dis* 2015; 26: 28177. doi:10.3402/mehd.v26.28177.

3. López BP. *Terapia Ocupacional en la Infancia* (eBook). Editorial Médica Panamericana S.A.; 2014.
4. Bell S, Maussion G, Jefri M, Peng H, Theroux JF, Silveira H, et al. Disruption of GRIN2B Impairs Differentiation in Human. *Neurons Stem Cell Reports* 2018; 11 (1): 183-196. doi:10.1016/j.stemcr.2018.05.018.
5. Frye RE, Slattery J, MacFabe D, Allen-Vercoe E, Parker W, Rodakis J, et al. Approaches to studying and manipulating the enteric microbiome to improve autism symptoms. *Microb Ecol Health Dis* 2015; 26: 26878. doi:10.3402/mehd.v26.26878.
6. Sánchez-Samper E, Gomez-Gallego C, Andreo-Martínez P, Salminen S, Ros G. Mice gut microbiota programming by using the infant food profile. The effect on growth, gut microbiota and the immune system. *Food Funct* 2017; 8 (10): 3758-3768. doi:10.1039/c7fo00819h.
7. Mangiola F, Ianiro G, Franceschi F, Fagioli S, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Gut microbiota in autism and mood disorders. *World J Gastroenterol* 2016; 22 (1): 361-368. doi:10.3748/wjg.v22.i1.361.
8. Finegold SM, Molitoris D, Song Y, Liu C, Vaisanen ML, Bolte E, et al. Gastrointestinal microflora studies in late-onset autism. *Clin Infect Dis* 2002; 35 (Suppl 1): S6-S16. doi:10.1086/341914.
9. Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, Buchanan CP, Maxwell AP, Vaisanen ML, et al. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. *J Child Neurol* 2000; 15 (7): 429-435. doi:10.1177/088307380001500701.
10. Frye RE, Nankova B, Bhattacharyya S, Rose S, Bennuri SC, MacFabe DF. Modulation of Immunological Pathways in Autistic and Neurotypical Lymphoblastoid Cell Lines by the Enteric Microbiome Metabolite Propionic Acid. *Front Immunol* (2017) 8: 1670. doi:10.3389/fimmu.2017.01670.
11. Li Q, Han Y, Dy ABC, Hagerman RJ. The Gut Microbiota and Autism Spectrum Disorders. *Front Cell Neurosci* 2017; 11: 120. doi:10.3389/fncel.2017.00120.
12. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473: 174. doi:10.1038/nature09944.
13. Andreo-Martínez P, García-Martínez N, Sánchez-Samper EP. The gut microbiota and its relation to mental illnesses through the microbiota-gut-brain axis. *Rev Dis Cli Neuro* 2017; 4 (2): 52-58.
14. Ding HT, Taur Y, Walkup JT. Gut Microbiota and Autism: Key Concepts and Findings. *J Autism Dev Disord* 2017; 47 (2): 480-489. doi:10.1007/s10803-016-2960-9.
15. Rothhammer V, Mascanfroni ID, Bunse L, Takenaka MC, Kenison JE, Mayo L, et al. Type I interferons and microbial metabolites of tryptophan modulate astrocyte activity and central nervous system inflammation via the aryl hydrocarbon receptor. *Nat Med* 2016; 22 (6): 586. doi:10.1038/nm.4106.

16. MacFabe DF. Short-chain fatty acid fermentation products of the gut microbiome: implications in autism spectrum disorders. *Microb Ecol Health Dis* 2012; 23: 19260. doi:10.3402/mehd.v23i0.19260.
17. De Angelis M, Piccolo M, Vannini L, Siragusa S, De Giacomo A, Serrazzanetti DI, et al. Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. *PLoS One* 2013; 8 (10): e76993. doi:10.1371/journal.pone.0076993.
18. Gupta VK, Paul S, Dutta C, Geography. Ethnicity or Subsistence-Specific Variations in Human Microbiome Composition and Diversity. *Front Microbiol* 2017; 8: 1162. doi:10.3389/fmicb.2017.01162.
19. García-Martínez N, Andreo-Martínez P, Almela L. Characterization of Six Artichoke Cultivars and Their Suitability for Agro-industrial Processing. *J Food Nutr Res* 2017; 5 (4): 234-242. doi:10.12691/jfnr-5-4-5.