

ÁCIDOS GRASOS DE CADENA  
CORTA Y ENFERMEDADES  
NEURODEGENERATIVAS  
TRABAJO FIN DE GRADO  
GRADO EN FARMACIA - 5º CURSO

Autor: Alejandro Jiménez Herrera  
JUNIO DE 2024



# ÍNDICE

ABREVIATURAS .....	1
RESUMEN .....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. OBJETIVOS.....	7
3. METODOLOGÍA .....	7
4. DESARROLLO .....	8
4.1. SUBPRODUCTOS DE LA MICROBIOTA: ÁCIDOS GRASOS DE CADENA CORTA Y OTROS.....	8
4.1.1. Acetato.....	10
4.1.2. Propionato.....	10
4.1.3. Butirato .....	11
4.2. IMPLICACIÓN DE LOS AGCC EN LAS FUNCIONES DEL SNC.....	12
4.3. ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA .....	14
4.4. RELACIÓN AGCC-DIETA-ELA.....	16
4.5. MONITORIZACIÓN DE LA PRESENCIA DE AGCC EN HECES.....	17
4.6. CONSEJO DIETÉTICO-PROBIÓTICO EN LA FARMACIA COMUNITARIA .....	20
5. CONCLUSIONES .....	22
6. BIBLIOGRAFÍA .....	24
7. ANEXO.....	28

# ABREVIATURAS

**AGCC:** Ácido graso de cadena corta

**BHE:** Barrera hematoencefálica

**CE/MS:** Electroforesis capilar/Espectrometría de masas (*Capillary electrophoresis/Mass spectrometry*)

**DB-2:** Diabetes Mellitus tipo 2

**Eje HPA:** Eje hipotálamo – glándula pituitaria – glándula adrenal

**ELA:** Esclerosis lateral amiotrófica

**EMA:** Agencia Europea de Medicamentos (*European Medicines Agency*)

**FDA:** Administración de Alimentos y Medicamentos de los EEUU (*Food and Drugs Administration*)

**GC:** Cromatografía de gases (*Gas chromatography*)

**GC/FID:** Cromatografía de gases/Detector de ionización de llama (*Gas chromatography/Flame ionization detector*)

**GC/MS:** Cromatografía de gases/Espectrometría de masas (*Gas chromatography/Mass spectrometry*)

**HPLC:** Cromatografía líquida de alto rendimiento (*High performance liquid chromatography*)

**LC/MS:** Cromatografía líquida/Espectrometría de masas (*Liquid chromatography/Mass spectrometry*)

**LPS:** Lipopolisacárido

**(NF- $\kappa$ B):** Factor nuclear kappa  $\beta$

**RMN:** Resonancia magnética nuclear

**SNC:** Sistema nervioso central

**SNE:** Sistema nervioso entérico

**TGI:** Tracto gastrointestinal

**UFC:** Unidades formadoras de colonias

## RESUMEN

La microbiota intestinal o microbioma es el conjunto de microorganismos situado a lo largo del tracto gastrointestinal (TGI), responsable de la regulación de múltiples funciones en el organismo. Su presencia y diversidad ha demostrado tanto predisponer como prevenir ante la manifestación de patologías en el propio TGI, así como a nivel sistémico, mostrando implicaciones endocrinas y estructurales. Entre sus productos metabólicos, son destacables los ácidos grasos de cadenas corta (AGCC), cuyas funciones son determinantes en la prevención del desarrollo de condiciones inflamatorias.

La microbiota ejerce una comunicación bidireccional directa con el sistema nervioso central (SNC), regulando la liberación de moléculas intermediarias y modulando la homeostasis de tejidos como el hepático, pancreático, entérico y nervioso. Son varias las vías de comunicación, aunque la principal tiene lugar a través del sistema nervioso entérico (SNE).

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la paulatina atrofia muscular, parálisis y posterior muerte del paciente. Se trata de una patología sin un mecanismo fisiopatológico definido y su etiología es aún debatida y difusa. Un factor fundamental en la evolución de la enfermedad es la neuroinflamación del tejido, lo que podría relacionar a los AGCC.

La determinación de AGCC es un campo de análisis químico complicado dada la naturaleza de las posibles muestras. La elección tiende a ser el análisis de muestras de heces, una matriz que puede dar lugar a procedimientos extensos y con variantes en función de la técnica empleada. La elección de un método de análisis adecuado y suficientemente validado es un elemento clave a la hora de entender la situación de los metabolitos microbióticos en los individuos de estudio.

Esta revisión bibliográfica pretende agrupar la información relacionada a este ámbito, entender la implicación de los AGCC en estas enfermedades y desarrollar una aplicación práctica de los conocimientos a la hora de establecer una buena implementación dietética con el fin de dotar a la sociedad de un microbioma diverso y que reduzca la aparición de estas patologías o ralentice su evolución.

**Palabras clave:** ácidos grasos de cadena corta (AGCC), microbiota, eje microbiota-SNC, sistema nervioso entérico, enfermedades neurodegenerativas, ELA, probióticos, prebióticos, dieta, análisis de heces.



# 1. INTRODUCCIÓN

La microbiota humana es un elemento esencial en la regulación de las funciones fisiológicas y está compuesta por una variedad de microorganismos de hasta 100 trillones de unidades formadoras de colonias (UFC). Principalmente, estos microorganismos residen en la piel, el tracto urogenital, la cavidad oral, el tracto respiratorio y el tracto gastrointestinal.<sup>1,2</sup> Entre sus funciones cabe destacar las inmunológicas, metabólicas, estructurales y neurológicas, tanto a nivel local como sistémico. Además de todo ello, es importante denotar que la microbiota constituye un entorno dinámico y en constante cambio a las condiciones del entorno, por lo que la dieta, así como otros factores son capaces de modular sus características.<sup>3,4</sup>

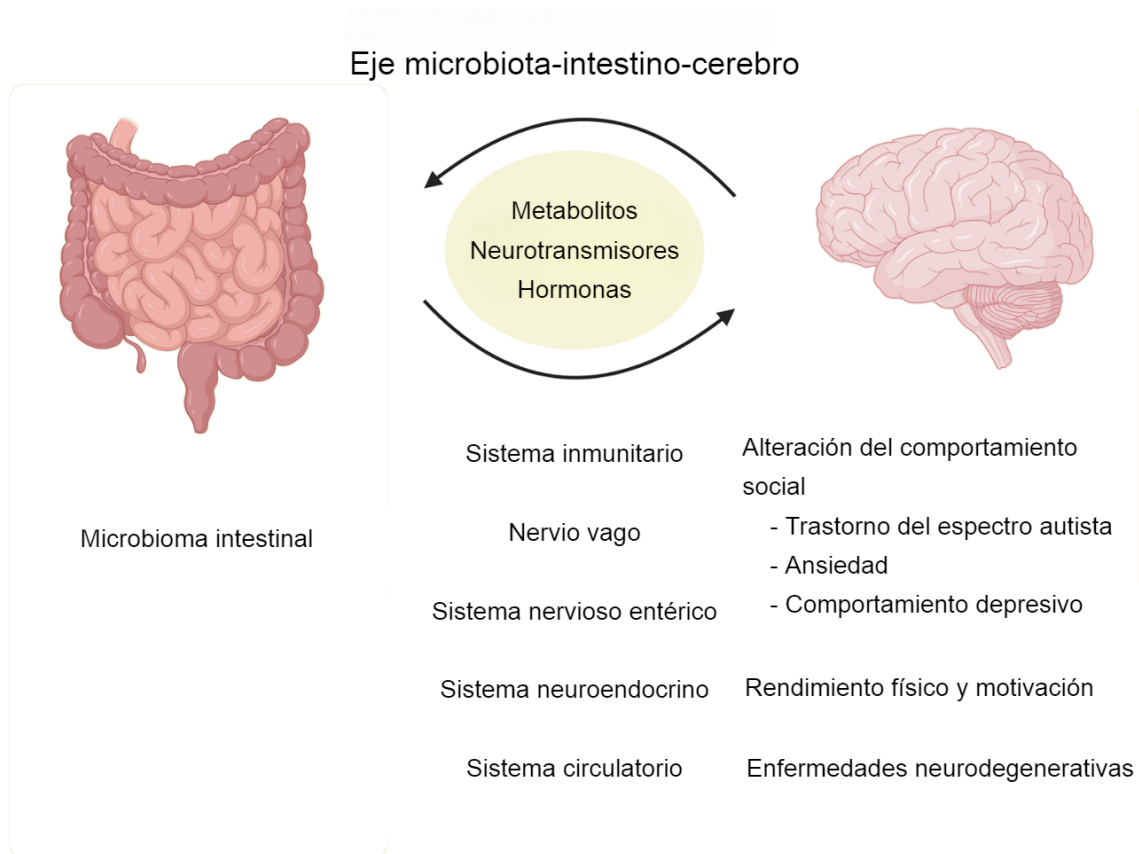
La alteración del equilibrio homeostático de la microbiota o disbiosis ha demostrado dar lugar a una serie de mecanismos fisiopatológicos asociados al desarrollo de enfermedades en diversos sistemas, por lo que su adecuado equilibrio es fundamental como factor ambiental en la prevención.<sup>2,3</sup>

Un rol importante de dicha regulación homeostática se atribuye a los metabolitos derivados de los procesos de fermentación llevados a cabo por las bacterias gastrointestinales: los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), los cuales han demostrado tener potencial regulador ante la liberación de moléculas pro-inflamatorias endógenas.<sup>1,2,3,5,6</sup>

La relación entre la microbiota y el SNC, también conocida como eje microbiota-SNC, es un fenómeno ampliamente descrito y conocido. El TGI y el cerebro se encuentran en constante comunicación bidireccional, mediada en gran medida por los productos metabólicos de la microbiota.<sup>2,7</sup> Este eje modula tanto funciones digestivas como inmunes.<sup>7,8</sup>

Se definen 3 vías por las que el microbioma se comunica con el cerebro: la ruta neural (nervio vago y SNE), la ruta inmunológica (citoquinas) y la ruta endocrina (eje hipotálamo - glándula pituitaria - glándula adrenal (eje HPA) y hormonas intestinales).<sup>2</sup>

Alteraciones en cualquiera de estas vías puede predisponer y desencadenar trastornos neurológicos, metabólicos, gastrointestinales y cardiovasculares.<sup>2,9,10,11</sup>



**Figura 1. Eje microbiota-cerebro. Efectos e implicaciones. Adaptado de Loh JS y cols.<sup>12</sup>**

La disbiosis ha sido asociada a un incremento de la permeabilidad intestinal y la inflamación. Se cree que podría causar un aumento de los niveles plasmáticos de productos metabólicos dañinos, entre ellos amiloides microbiales que afectan al desarrollo de patologías en el SNC.<sup>2</sup>

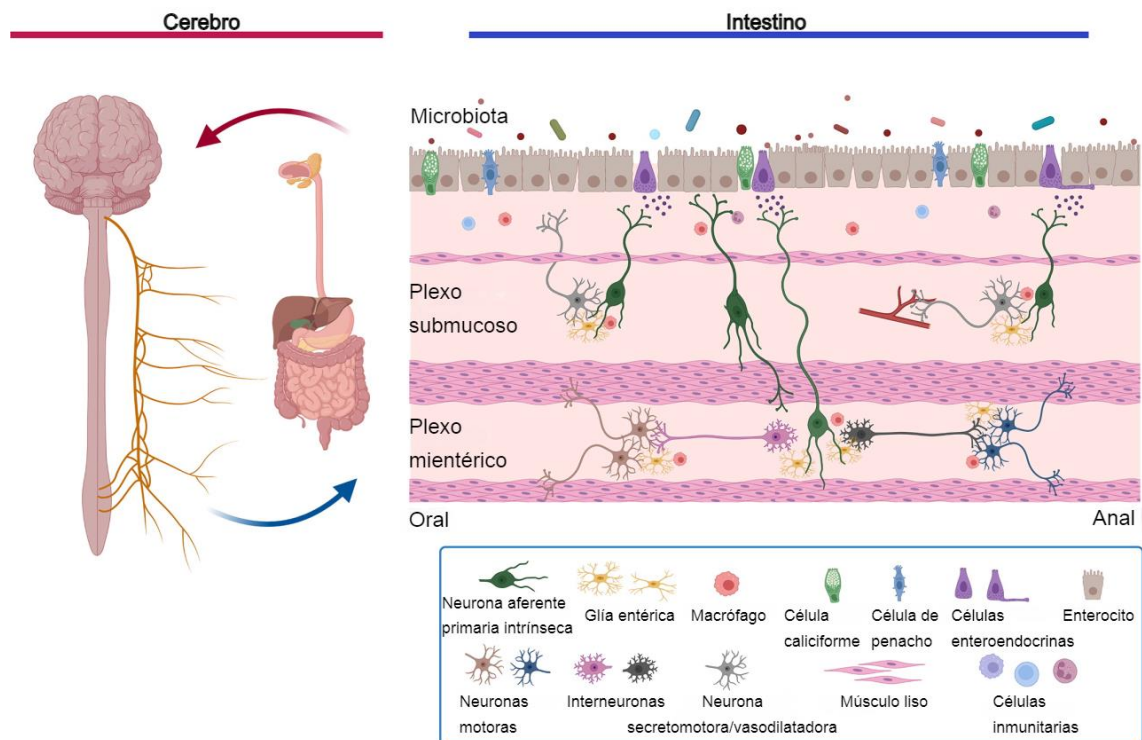
Así pues, la hipótesis de que enfermedades como el Parkinson y Alzheimer, y otras enfermedades neurodegenerativas como la ELA comiencen en el intestino, gana día tras día mayor relevancia.<sup>2</sup>

El TGI es uno de los tejidos con mayor cantidad de estructuras diferenciadas de todo el organismo. Este hecho se debe, principalmente, a la presencia del sistema nervioso entérico. El SNE es un complejo entramado de neuronas y células de la glia que forman parte de la pared intestinal. Entre sus funciones encontramos el control de la actividad digestiva e inmune.<sup>7</sup>

Este sistema se divide en ganglios compuestos por neuronas y neuroglía, agrupadas en dos plexos que se interconectan a diversas redes neuronales. Estos plexos otorgan control local de la musculatura lisa gastrointestinal, vascular, glandular, células inmunes y tejidos adyacentes. El primero de estos plexos es el plexo mientérico, ubicado entre las capas



musculares longitudinal y circular, mientras que el segundo plexo, el plexo submucoso, se ubica entre los tejidos conjuntivos de la submucosa (Figura 2.).<sup>7</sup>



**Figura 2. Representación del sistema nervioso entérico. Adaptado de Sharkey KA y cols.<sup>7</sup>**

A diferencia del SNC, el SNE no presenta ningún tipo de barrera semejante a la barrera hematoencefálica (BHE), lo que permite el flujo de moléculas desde el torrente sanguíneo con mayor libertad, dando lugar a presencia de metabolitos y productos absorbidos desde el TGI en los tejidos ganglionares, inclusive moléculas de pesos moleculares relativamente altos.<sup>7</sup> En cualquier caso, los AGCC son capaces de atravesar la BHE mediante transportadores celulares<sup>13</sup>, por lo que su absorción no se limita al SNE. No obstante, otros elementos pueden acceder al sistema nervioso desde el lumen intestinal.

Este tejido neuronal, así como el SNC, se ve afectado por la microbiota, habiéndose observado variaciones en la neurogénesis de neuronas entéricas y neuroglía del SNE en función de la composición del balance microbiológico.<sup>7,14</sup> Es tal su impacto que puede modificar el entorno estructural. Por ejemplo, se observó que la suplementación de AGCC se asocia a procesos de neurogénesis tanto local en el SNE como en el SNC.<sup>14</sup>

## 2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es comprender el rol de los AGCC, principalmente propionato y butirato, en los procesos neurodegenerativos y proponer estrategias para la regulación de su producción mediante la dieta o la suplementación. Asimismo, se propondrá un método analítico que permita la monitorización de AGCC en heces.

Para su desarrollo se llevarán a cabo las siguientes tareas:

- Realizar una búsqueda bibliográfica sobre el papel fisiológico de los AGCC haciendo especial hincapié en las enfermedades neurodegenerativas.
- Comprender los mecanismos que permiten regular la producción de los AGCC en el intestino.
- Valorar el efecto del consumo de determinados alimentos o de suplementos dietéticos para su regulación.
- Proponer un procedimiento de análisis para la determinación de los AGCC en heces en base a la bibliografía más reciente.

## 3. METODOLOGÍA

En la actividad de búsqueda bibliográfica se ha llevado a cabo una recopilación de datos a través de internet, fundamentalmente mediante la base de datos científica “PubMed” y “Google académico”. De forma paralela, se han consultado productos sanitarios e información asociada a suplementos dietéticos y probióticos dispuestos a nivel comunitario en las oficinas de farmacia.

Mediante la utilización de las bases de datos, se ha consultado un total de 95 artículos, de los cuales se seleccionaron 43 utilizando los siguientes parámetros: “microbiome, SCFA, microbiome AND SCFA, SCFA producing bacteria, microbiome and CNS, enteric nervous system, SCFA and ENS, probiotic and neurodegenerative disorder, amyotrophic lateral sclerosis, ALS and SCFA, ALS and diet, faeces and short chain fatty acids and chromatography”. Se filtraron datos de los últimos 10 años.

Respecto a la revisión bibliográfica de los métodos analíticos, se seleccionaron los métodos de análisis más relevantes de cada una de las técnicas analíticas utilizadas en el análisis de AGCC para su posterior comparación (Tabla 1). Finalmente, para el desarrollo de los elementos gráficos del trabajo se utilizó la herramienta online “BioRender”.

## 4. DESARROLLO

Los AGCC juegan un papel fundamental en la regulación de los procesos fisiológicos y en la prevención de la patología inflamatoria. A continuación, se describen los 3 AGCC principales y sus implicaciones en las funciones del SNC.

Seguidamente, se define la ELA y se asocia al pretexto y a los factores dietéticos de los pacientes. Más adelante, se exponen las principales técnicas de análisis de AGCC y finalmente se desarrolla un consejo farmacéutico dietético-probiótico en base a todo el contenido precedente.

### 4.1. SUBPRODUCTOS DE LA MICROBIOTA: ÁCIDOS GRASOS DE CADENA CORTA Y OTROS

Se describe como AGCC a aquellos ácidos grasos compuestos por hasta 6 átomos de carbono, aunque en el ámbito de la microbiota humana esta definición tiende a englobar únicamente aquellos AGCC de hasta 4 átomos de carbono: ácido fórmico, ácido acético, ácido propionico y ácido butírico.<sup>2,6</sup> A excepción del ácido fórmico cuya función se ha visto relacionada con la generación de metano y cuya presencia se ha observado elevada en condiciones inflamatorias<sup>6</sup> (lo cual limita su interés clínico), estas moléculas se asocian a un descenso en la presencia de diversos factores pro-inflamatorios endógenos como son los lipopolisacáridos inductores de la liberación de citoquinas, por lo que se asocian a los efectos positivos de la microbiota intestinal.<sup>5,6</sup>

Su síntesis se produce a través de la fermentación de carbohidratos, fibra, prebióticos y proteínas aún sin digerir implementadas por la dieta, y su papel es esencial para la integridad intestinal, contribuyendo a aspectos como el pH luminal, la producción de la mucosa, el gasto energético celular, la homeostasis de la glucosa y la modulación inmunológica.<sup>5</sup>

Los taxones bacterianos predominantes responsables de la producción de estos metabolitos son *Bacteroidetes* y *Firmicutes* (90%) mientras que algunos de los taxones menos presentes pero también relevantes son *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Fusobacteria*, así como algunas arqueobacterias del taxón *Archaea*. Entre estos taxones, destacan 11 géneros: *Bacteroides*, *Bifidobacteria*, *Lactobacilli*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Akkermansia*, *Alistipes*, *Ruminococcus*, *Clostridia*, *Roseburia* y *Blautia*.<sup>2,5</sup> (Figura 3.)

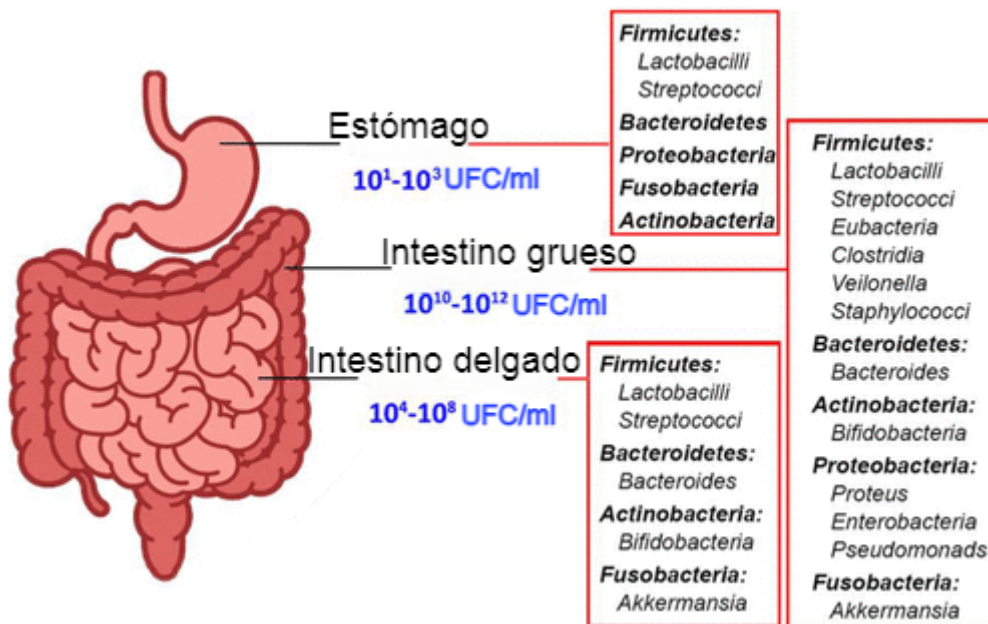


Figura 3. Taxones microbianos predominantes en el TGI humano. Adaptado de Sasso JM y cols.<sup>2</sup>

Bajo las condiciones anaerobias presentes en el colon; mayoritariamente en su sección proximal, estos grupos bacterianos fermentan monosacáridos mediante hidrólisis y consecutivamente transforman dichos productos en fosfoenolpiruvato. Este último intermediario es el precursor de los distintos AGCC mediante diferentes reacciones metabólicas.<sup>5,6</sup> El lactato es también uno de los principales metabolitos de estas fermentaciones, que puede ser transformado en AGCC mediante el metabolismo cruzado de ciertos microorganismos.<sup>6</sup>

En cuanto a la presencia y formación de estos productos, las vías de formación del acetato se distribuyen ampliamente entre la mayoría de los grupos bacterianos y en consecuencia es el más prevalente de todos ellos, mientras que el propionato, butirato y lactato se encuentran ligados a la presencia de distintos sustratos.<sup>5,6</sup> El ratio acetato, propionato, butirato usual es de 60:20:20.<sup>5,9</sup>

Respecto a sus funciones y actividades, el acetato, propionato y butirato han demostrado estar ligados a beneficios tanto de forma conjunta como independiente. Dichos beneficios se asocian a la integridad intestinal, la homeostasis de la glucosa, el metabolismo lipídico, la regulación del apetito y la función inmunológica. Adicionalmente, su relación con la inhibición de la liberación de moléculas pro-inflamatorias ha dado lugar a un vínculo entre su producción y la prevención del desarrollo de ciertas patologías.<sup>3,6</sup>

#### 4.1.1. Acetato

La producción de acetato puede ocurrir mediante la metabolización de Acetil-CoA a acetato a través de diversas bacterias anaerobias o mediante la ruta de Wood-Ljungdahl.<sup>5</sup> Se trata del AGCC producido en mayor cantidad por las bacterias intestinales.<sup>5,6,10</sup>

El acetato demuestra propiedades lipogénicas y reguladoras de la glucosa a nivel hepático, promoviendo la lipogénesis *de novo* y la colesterogénesis. Así mismo, el acetato ha mostrado estar ligado a la supresión de la lipólisis adipocítica, lo que reduce las concentraciones de ácidos grasos libres. Además, los niveles plasmáticos de acetato han demostrado estar inversamente relacionados a los niveles plasmáticos de insulina, siendo un regulador de su liberación.<sup>5,6</sup>

También a nivel hepático, el acetato estimula la liberación de leptinas; unas moléculas moduladoras de la saciedad, lo cual asocia sus niveles plasmáticos a la reducción del apetito. Los AGCC a rasgos generales demuestran modular la actividad neuronal periférica, autonómica y somática, así como los reflejos viscerales. Se requieren más investigaciones en relación a este aspecto con el fin de determinar qué papel desempeña cada AGCC en específico.<sup>6</sup>

Por último, los AGCC en conjunto; incluido el acetato, presentan un efecto sobre el sistema inmunológico mediando la inflamación.<sup>3,6</sup> (Anexo)

#### 4.1.2. Propionato

El propionato puede ser producido mediante 3 vías: la vía del succinato, acrilato o propanodiol.<sup>5</sup> De todas ellas, se ha observado que la vía principal es la del succinato, llevada a cabo por bacterias del filo *Bacteroidetes*<sup>15</sup> y en menor medida de la familia *Negativicutes*. Por su parte, la vía del acrilato se reduce a unas pocas especies dentro de las familias *Lachnospiraceae* y *Negativicutes*. En tercer lugar, la vía del propanodiol es más prevalente en *Lachnospiraceae* siendo llevada a cabo por las especies *Ruminococcus obeum* y *Roseburia inulinivorans*.<sup>5,10</sup> Todas estas especies asociadas a las vías del acrilato y propanodiol pertenecen al filo *Firmicutes*.

En cuanto a sus funciones, el propionato no parece tener una actividad específica en la integridad intestinal. Metabólicamente, demuestra favorecer la gluconeogénesis hepática. Del mismo modo que el acetato, también participa en la homeostasis hepática de los lípidos y la glucosa. De forma particular y específica en relación a los otros AGCC, el propionato muestra una actividad única en el hígado: reduce los niveles de triglicéridos hepáticos. En cuanto al metabolismo lipídico, antagoniza los efectos del acetato inhibiendo la lipogénesis

*de novo* y la colesterogénesis. Además, el propionato ha demostrado reducir la grasa visceral y hepática.<sup>5</sup>

En relación al apetito, el propionato induce una regulación a corto plazo, reduciendo el apetito como en el caso del acetato. Por último, a nivel inmunológico el propionato regula la producción de células T mediante la inhibición de la deacetilación de histonas (DAH), así como inhibe por otra parte la expresión de citocinas pro-inflamatorias inducidas por lipopolisacáridos como son IL-6 y IL-12p40 en las células dendríticas.<sup>5</sup> En conclusión, una mayor expresión de propionato reduce la respuesta inmune e inflamatoria en el largo plazo y reduce los marcadores biológicos asociados al sobrepeso.

#### **4.1.3. Butirato**

El butirato por su parte se forma mediante la condensación de dos moléculas de acetyl-CoA a través de la vía de la butirato quinasa o bien la vía de la butiril-CoA:acetato CoA-transferasa. Esta síntesis se produce ampliamente en el filo de las gram-positivas *Firmicutes*. Dentro del filo, son dos grupos los que están implicados: *Eubacterium rectale/Roseburia spp* y *Faecalibacterium prausnitzii*. Además, se ha observado que esta síntesis de butirato se produce esencialmente ante la presencia de acetato.<sup>5,10,16</sup>

Más allá de estas rutas, existen muchas otras vías menores de formación de AGCC, dado que diversas especies se sirven de intermediarios como gas hidrógeno (H<sub>2</sub>), lactato, succinato, formato y etanol, dando lugar a los AGCC como producto.<sup>5</sup>

Entre todas sus funciones beneficiosas, la más conocida y descrita es la asociada a la preservación de la integridad epitelial del colon. El butirato es la fuente de energía de elección de los colonocitos y es en este tejido donde se produce la mayor cantidad de captación de este sustrato.<sup>6</sup> Así pues, el butirato induce proliferación al mismo tiempo que induce una apoptosis mediada en el tiempo en las células del epitelio del colon. El butirato también se ha visto relacionado a la regulación de la expresión de zónula ocludens-1 (ZO-1) y ocludina, dos componentes críticos en las uniones estrechas intercelulares, así como de los lipopolisacáridos (LPS), dando lugar a una inhibición de la activación de macrófagos, citoquinas pro-inflamatorias e infiltración de neutrófilos; en definitiva, dando lugar a una reducción de los procesos inflamatorios.<sup>6</sup> Gracias a su presencia, se reduce la manifestación de una condición conocida como síndrome del intestino permeable, la cual da lugar a una mayor entrada de productos menos restrictiva al torrente sanguíneo. En relación a este hecho, se ha observado que niveles elevados de estrés reducen la presencia de especies productoras de butirato y aumentan la permeabilidad intestinal y los procesos inflamatorios del TGI.<sup>6,15</sup> Una presencia adecuada de butirato también ha demostrado una mejor calidad

de la mucosa intestinal, elevando la adherencia de familias beneficiosas como *Lactobacillus* y *Bifidobacteria* mientras se mostraba una adherencia reducida de especies patógenas como *E. coli*.<sup>5</sup>

Respecto a la regulación de la glucosa, el butirato cumple una función lipogénica en el hígado.<sup>6</sup>

Finalmente, el butirato cumple otra función de alta relevancia a nivel inmunológico. Ha demostrado inhibir el factor nuclear kappa  $\beta$  (NF- $\kappa$ B) en los macrófagos, el cual efectúa una respuesta inmune e inflamatoria. Esta inhibición a nivel de las células de Kupffer hepáticas se manifiesta mediante la supresión del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), IL-6, y la reducción en la actividad de la mieloperoxidasa.<sup>6</sup> Del mismo modo, inhibe la DAH en leucemias mieloide agudas. También se ha visto implicado en la actividad de la producción y funcionamiento de células T inmunológicas y la expresión de LPS inductores de citoquinas: IL-6 e IL12p40 en las células dendríticas humanas.<sup>6</sup>

A rasgos generales, se contempla que el butirato tiene un papel antiinflamatorio a gran escala. En organismos con bajos niveles de este producto, se han observado alteraciones metabólicas más prevalentes, como diabetes mellitus tipo 2 (DB-2). Así mismo, se ha observado que la reducción de los factores pro-inflamatorios se manifiesta a nivel periférico en tejidos articulares cuando los niveles de butirato son lo suficientemente altos, dando un posible valor a las dietas inductoras de su producción en patologías asociadas a esta condición, como la artritis.<sup>6</sup>

Adicionalmente, se ha observado que el butirato presenta un factor neuroprotector y que estimula la cognición.<sup>10</sup>

## **4.2. IMPLICACIÓN DE LOS AGCC EN LAS FUNCIONES DEL SNC**

Entre las funciones de los AGCC, es de inmenso interés el papel neuromodulador e inmunoregulador. La microbiota intestinal y sus productos se encuentran directamente ligados a procesos comunicativos y conductuales, además de influenciar aspectos como el estrés y factores psicológicos en el huésped.<sup>17</sup>

El estrés ha sido uno de los factores directamente relacionados a situaciones de disbiosis en diversos individuos con patología neurológica y/o intestinal.<sup>18</sup> Se ha podido observar que organismos bajo la influencia de estrés crónico presentaban una producción reducida de AGCC y en consecuencia mostraban mayor incidencia de patologías asociadas a la disbiosis, como el síndrome del intestino irritable, además de una mayor prevalencia de trastornos psicológicos.<sup>18</sup>

Cabe destacar que más allá de los aspectos directamente psicológicos a los que están ligados los AGCC, su papel modulador de la inflamación multi-tisular también afecta al SNC, por lo que es de relevancia en ciertas patologías como se observará más adelante.<sup>2,11</sup> En un estudio centrado en la relación de los AGCC con la patología de Alzheimer se observó que la carencia de fibra y AGCC aceleraba el déficit de memoria en modelos murinos, mientras que los suplementos altos en acetato y butirato retrasaban el deterioro cognitivo, afectando incluso a la morfología microglial y su funcionalidad. En esta ocasión se realizaron pruebas de suplementación de fibra en condición maternal prenatal, las cuales resultaron en una diferencia considerable en las funciones cognitivas de los descendientes, a favor de los nacidos de madres que consumieron el suplemento.<sup>17</sup>

Un creciente número de estudios asocian la microbiota y sus productos a las condiciones y enfermedades del SNC, indicando en algunos casos que los productos de la microbiota podrían tratarse por sí mismos de los causantes iniciales del desarrollo de las patologías.<sup>9,11,17,18</sup>

Altos niveles de acetato, propionato y butirato han demostrado aportar un factor protector ante el desarrollo de todas estas patologías relacionadas con la neuroinflamación y procesos inmunes en el largo plazo.<sup>16,18</sup> En diversos modelos de patología neurológica, a destacar en modelos de Alzheimer, se observan con amplia frecuencia niveles reducidos de los 3 AGCC y en algunos casos de lactato. En estos individuos, las poblaciones de *Bacteroidetes* son inferiores en relación a individuos sanos, mientras que las poblaciones de *Firmicutes* y *Proteobacteria* (las cuales son principalmente patógenas) se observan elevadas.<sup>6,19</sup>

A nivel psicológico, los AGCC están implicados en la modulación de procesos emocionales y conductuales, en especial el butirato, que ha demostrado aliviar las carencias cognitivas en modelos con demencia, así como en modelos obesos sometidos a dietas altas en grasas.<sup>18</sup> Ante la administración de prebióticos, el aumento en los niveles de los AGCC ha demostrado reducir los niveles de depresión, ansiedad y estrés.<sup>11,18</sup> Otro efecto observado, es la correlación de algunas cepas con el insomnio. Niveles deficitarios de *Lactobacillus* se han relacionado con una peor calidad del sueño. Respecto al estrés, se ha observado una relación inversamente proporcional entre los niveles de cortisol y la población de especies del grupo *Bifidobacterium*.<sup>20</sup>

El propionato por su parte, gracias a su interacción con la actividad de las leptinas, reduce la anticipación de la recompensa ante el consumo de alimentos de alta densidad energética, ejerciendo una modulación a nivel del núcleo estriado.<sup>18</sup> Este hecho podría asociarse a trastornos alimenticios presentes en pacientes deprimidos.



Una de las principales enfermedades neurodegenerativas afectadas y al mismo tiempo una de las menos conocidas a nivel causal es la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Existen varios mecanismos asociados a su aparición, sin embargo, no todos los pacientes comparten la presencia de todos ellos y los AGCC podrían jugar un papel fundamental e infravalorado en esta patología.<sup>13,21</sup>

### 4.3. ESCLEROSIS LATERAL AMIOTRÓFICA

La esclerosis lateral amiotrófica o ELA es una enfermedad neurodegenerativa de carácter motor, siendo la más común dentro de su categoría. En el año 2015 afectaba a cerca de 223.000 pacientes en el mundo, siendo de gran relevancia.<sup>22,23,24</sup>

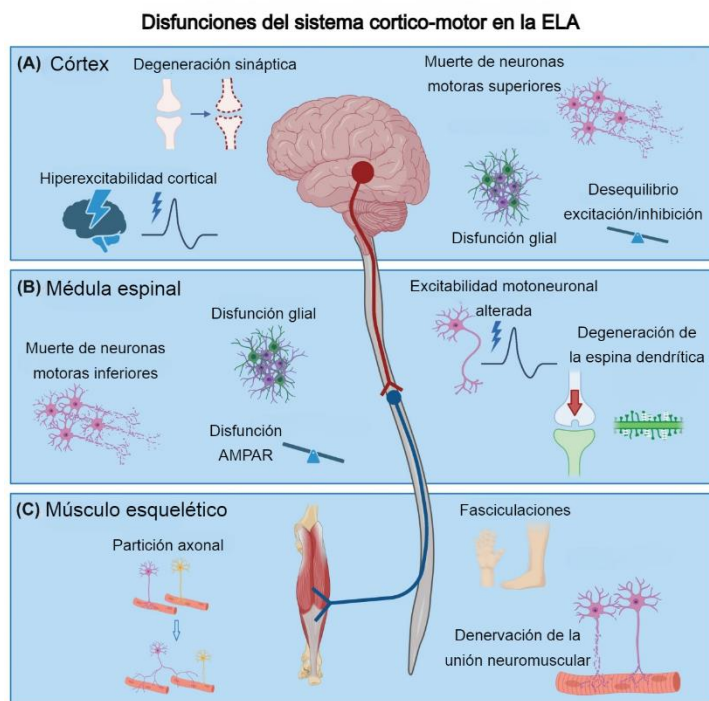
El principal sistema afectado es el sistema motor corticoespinal, el cual se origina en las neuronas motoras superiores a nivel del córtex cerebral y desciende hasta las

neuronas motoras inferiores en la columna espinal dando lugar a la sinapsis, intervando seguidamente el músculo esquelético y siendo responsable del movimiento muscular voluntario.<sup>22,23,25</sup>

Las causas del debut de la enfermedad aún son desconocidas, y por ello aún no sabemos discernir si la enfermedad se origina a nivel espinal o encefálico.<sup>23</sup>

La amplia mayoría de los casos de ELA (~90%) son de origen desconocido, mientras que alrededor del 10% se asocian a casos de descendencia familiar<sup>22,23,24,25</sup>, aunque son indistinguibles entre sí en cuanto a su clínica.<sup>23</sup> La enfermedad se asocia a alrededor de 50 genes distintos que muestran mutaciones.<sup>22,23,24,26</sup>

Respecto a la fisiopatología de la enfermedad, se pueden destacar 7 mecanismos reconocidos: el estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial, la desregulación del transporte

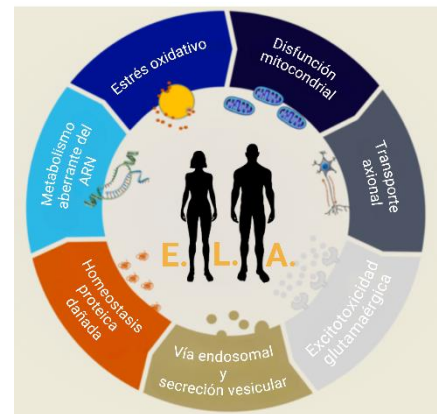


**Figura 4. Disfunciones del sistema cortico-motor en la ELA. Adaptado de Nagpal R y cols.<sup>19</sup>**

axonal y vesicular, la excitotoxicidad mediada por el glutamato, defectos a nivel homeostático de las proteínas, y un metabolismo alterado del ADN.<sup>22,23,24,25</sup>

La alteración de todos estos procesos no siempre está presente en todos los pacientes, y es de importancia denotar que no solo afecta a las neuronas del sistema corticoespinal si no que las células colindantes como las células de la glía, células inflamatorias periféricas y células musculares también se ven afectadas.<sup>22</sup>

Algunas de estas células y los factores pro-inflamatorios se han asociado a una neuroinflamación cronicada que resulta en toxicidad para las neuronas motoras.<sup>22,25</sup> Por ello, es importante no olvidar que otros factores más allá de aquellos originados propiamente en el SNC pueden influir en dicha neuroinflamación y lesión a largo plazo, o en su contra dar lugar a un factor protector o de prevención.



**Figura 5. Mecanismos frecuentemente implicados en el desarrollo de la ELA. Adaptado de Le Gall L y cols.<sup>22</sup>**

A lo largo del desarrollo de la patología los principales signos clínicos que se manifiestan son la atrofia muscular, parálisis y finalmente el deceso del paciente. Este proceso usualmente evoluciona a lo largo de 3 a 4 años desde la manifestación inicial de síntomas<sup>22</sup>, aunque existen casos excepcionales en los que el individuo ha sobrevivido durante décadas.

La clínica de la ELA es multifactorial y polifacética generando un gran obstáculo a la hora de abordar su progreso a nivel médico.<sup>26</sup>

Actualmente no existe ningún tratamiento efectivo y aprobado por la EMA para ralentizar el avance de la patología.<sup>22</sup> Las principales medidas adoptadas son el control de síntomas, la participación social y los cuidados paliativos.<sup>24</sup>

Sin embargo, sí que existen tratamientos en estudio y fases clínicas. Estos son principalmente tratamientos génicos centrados en algunas de las mutaciones genéticas en específico, por lo que no son aptos para todos los enfermos.<sup>27</sup>

A nivel global existen 2 fármacos recientemente aprobados por la FDA. Estos son riluzole; un inhibidor de la transmisión glutamatergica, y edaravone; el cual muestra una inhibición del deterioro de la función motora en modelos tempranos de la enfermedad, siendo ciertamente prometedor.<sup>25,28</sup>

#### 4.4. RELACIÓN AGCC-DIETA-ELA

Una de las variables principalmente determinantes en la composición de la microbiota y los efectos de esta en el organismo es la dieta. Hábitos dietéticos a largo plazo, así como una malnutrición dan lugar a efectos significativos y reproducibles en las comunidades microbianas intestinales.<sup>10</sup> Por ejemplo, está bien descrito que la composición de la microbiota en personas obesas y delgadas es distinta. Específicamente, la proporción de bacterias pertenecientes al taxón *Bacteroides* es menor en personas que padecen obesidad. Lo más interesante, es que se ha observado que esta proporción puede ser restaurada mediante la instauración de una dieta hipocalórica.<sup>10</sup> Existe cada vez más evidencia respecto a una variación de la producción de AGCC al producirse un cambio dietético en el individuo.<sup>6,10,13,29</sup>

Del mismo modo, se puede abordar otro tipo de condiciones o enfermedades a nivel dietético-microbiótico como pueden ser las enfermedades neurodegenerativas, con el fin de ralentizar su progreso o prevenir su aparición.

En el caso de la ELA, la microbiota podría suponer un factor ambiental de los muchos integrados en el riesgo y desarrollo de la patología.<sup>21,29</sup> En modelos de ELA, se observa daño en las uniones estrechas intestinales y niveles reducidos de bacterias productoras de butirato. En humanos varios estudios detectaron evidencias de disbiosis en todos sus pacientes con ELA, y la progresión de la enfermedad coincidió con una variedad microbiana reducida. En estos individuos, se encontró un ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* elevado.<sup>21</sup> Dado que estas bacterias son las principales productoras de AGCC, la alteración de su equilibrio podría afectar a los pacientes de ELA actuando directamente sobre la regulación de células del SNC y sistema inmune.<sup>13,21</sup> En estudios con ratones con microbiota deficitaria se desarrollaron anomalías inmunológicas y neurodegeneración.<sup>21</sup> En términos taxonómicos, los estudios en el tema son contradictorios, pero todos coinciden en la presencia de disbiosis. Dicha disbiosis se presenta alterando marcadamente el equilibrio de bacterias productoras de AGCC, lo que podría explicar la inflamación crónica que caracteriza a esta enfermedad.<sup>13,30</sup>

En análisis post-mortem de pacientes de ELA, se ha podido reportar un aumento de las reacciones inflamatorias desencadenadas por la microglía y los astrocitos.<sup>12</sup> La microglía es el tipo de célula de la glía más vulnerable a las alteraciones del microbioma, dado que la maduración y activación de estas células está modulada por los AGCC.<sup>12</sup> Estos defectos causados por disbiosis se han visto parcialmente restaurados ante la reinstauración de la microbiota en pacientes enfermos mediante trasplante de heces y suplementación de AGCC<sup>12</sup>, mostrando relación directa entre ambos factores.

Una cepa característicamente deficitaria en los organismos que sufren esta patología es *Akkermansia muciniphila* (*Fusobacteria*). Se trata de una cepa productora de butirato y estrechamente ligada a la integridad intestinal, siendo de las más relevantes en la condición del intestino permeable. Esta especie produce una molécula conocida como nicotinamida. Su administración en modelos murinos de ELA mejora ampliamente el pronóstico de los ratones enfermos. La suplementación probiótica de estas bacterias se asocia a un aumento de las neuronas motoras en la columna espinal, función motora mejorada, una reducción de la atrofia cerebral y una mayor esperanza de vida en los individuos patológicos de estudio.<sup>12</sup>

El microbioma intestinal y su alteración, bien por factores dietéticos o incluso por el uso de antibióticos<sup>31</sup>, parece afectar al desarrollo de la patología neuroinflamatoria a nivel celular pudiendo ser incluso un factor desencadenante, aunque se requieren más estudios.<sup>29</sup>

En conclusión, el microbioma podría ser la pieza que falta en el puzzle de la fisiopatología y etiopatogenia de la ELA, o al menos del empeoramiento y aceleración de sus síntomas.<sup>13,32</sup>

#### **4.5. MONITORIZACIÓN DE LA PRESENCIA DE AGCC EN HECES**

La monitorización de los niveles de AGCC se ha visto dificultada por la falta de metodología para la determinación de la producción de estos elementos directamente en el TGI humano. El estudio ha dependido principalmente de la determinación de productos metabólicos en heces, los cuales no se puede afirmar que resulten del todo extrapolables a los niveles de AGCC luminales<sup>6</sup>, dado que estos han demostrado variar en periodos muy cortos de tiempo.<sup>33</sup> Los AGCC también se han podido determinar en plasma, suero, cerebro, ciego del colon y medios de fermentación complejos, aunque su popularidad se limita a patologías concretas y la alternativa fecal a la hora de obtener la muestra es menos invasiva.<sup>34</sup> Además, el contenido de AGCC en estas otras opciones es mucho menor, lo que reduce su interés.<sup>35</sup>

La técnica analítica principal dada su precisión y velocidad es la cromatografía de gases (GC), y más concretamente la cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS).<sup>34</sup> Se basa en una fase gas móvil que separa los componentes en función de su diferente interacción con la fase estacionaria de la columna de cromatografía y el posterior análisis por espectrometría de masas. Aunque durante muchos años se ha venido utilizando la cromatografía de gases acoplada a un detector de ionización de llama (GC/FID), la GC/MS es a día de hoy la más recomendada por su elevada sensibilidad y selectividad. Otras técnicas menos empeladas en el análisis de AGCC pero también relevantes son la

cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC/MS), la resonancia magnética nuclear (RMN), y la electroforesis capilar-espectrometría de masas (CE/MS).<sup>33,36</sup>

Cada técnica presenta sus ventajas e inconvenientes. La RMN no goza de una alta sensibilidad ni selectividad, pero no requiere de preparación de muestra apenas y se puede utilizar como método no invasivo para estudiar la presencia de los metabolitos en células y tejidos. La MS por su parte, especialmente asociada a una técnica de separación cromatográfica o electroforética ofrece alta sensibilidad y selectividad. En el caso de la GC, suele ser necesaria una derivatización previa de los ácidos grasos para aumentar su volatilidad y con ellos la sensibilidad del método.<sup>37</sup> A continuación se comparan todas estas alternativas en base a bibliografía asociada. (Tabla 1.)

**Tabla 1. Métodos de análisis de AGCC más utilizados y sus diferencias.**

Matriz	Técnica	Tratamiento de muestra	Límite de detección A / P / B	Límite de cuantificación A / P / B	Ventaja	Ref.
Heces	LC/MS	Homogeneización y derivatización con 3-nitrofenilhidrazona	1.9 / 0.2 / 0.006 (µmol/g DW)	1020 / 446 / 440 (µmol/g DW)	Rápido y detiene metabolización de AGCC	(34)
Heces	GC/FID	Homogeneización y extracción líquido-líquido	No consta	No consta	Proceso muy rápido	(37)
Heces	GC/MS	Homogeneización, extracción líquido-líquido y derivatización	0.0651 / 0.0671 / 0.0645 µm	1.6272 / 1.6784 / 1.6128 µm	Alta sensibilidad y bajo LD	(38)
Heces, suero, tejido	GC/MS	Extracción con etanol	0.5 / 1 / 0.13	10 / 5 / 10 (µg/mL)	Útil en diversos fluidos y tejidos biológicos	(39)
Heces	GC/FID	Homogeneizado y acidificación	0.15 / 0.17 / 0.10 (µg/mL)	0.5 / 0.56 / 0.32 (µg/mL)	No disolv. orgánico Poco tiempo al no derivatizar	(40)
Heces	HPLC/DAD	Homogeneización y extracción en fase sólida (SPE)	0.1456 / 0.1496 / 0.1428 (mg/ml)	0.4412 / 0.4533 / 0.4327 (mg/ml)	No es un proceso multietapa	(41)
Heces	CE/UV	Homogeneización y acidificación	0.13 / 0.09 / 0.03 (mmol L-1)	0.43 / 0.29 / 0.09 (mmol L-1)	Poca muestra requerida Barato y sencillo	(42)
Heces	GC/MS y RMN	Homogeneización, acidificación. Extracción líquido-líquido y derivatización para GC/MS	Reducido	No consta	No invasivo / no destructivo	(43)

La GC/MS en combinación con una adecuada preparación de muestra, es a día de hoy la técnica analítica de elección.<sup>35</sup> Un ejemplo de ello es el método desarrollado por Zhang S y cols.<sup>38</sup>

Habitualmente, el primer paso para el pretratamiento de muestra fecales suele ser el homogeneizado con agua ultrapura seguida de una etapa de centrifugación. La extracción líquido-líquido, previa acidificación de la muestra, es en la mayoría de los métodos la técnica de elección para el tratamiento de la muestra homogeneizada. Como extractantes, se puede utilizar dietileter<sup>38</sup> o mezcla de distintos disolventes como n-butanol, acetonitrilo y tetrahidrofurano.<sup>37</sup> Una alternativa a la utilización de disolventes orgánicos, es la propuesta realizada por Smith y colaboradores, donde se propone la homogeneización y acidificación de la muestra, que tras la centrifugación, es analizada directamente por GC/FID.<sup>40,42</sup> Para la determinación por GC/MS, suele ser necesaria una derivatización previa de los AGCC que mejore su volatilidad y de este modo la sensibilidad del método.<sup>38,43</sup>

En la siguiente figura se muestra el procedimiento de preparación de muestra propuesta por Zhang y cols.<sup>38</sup>

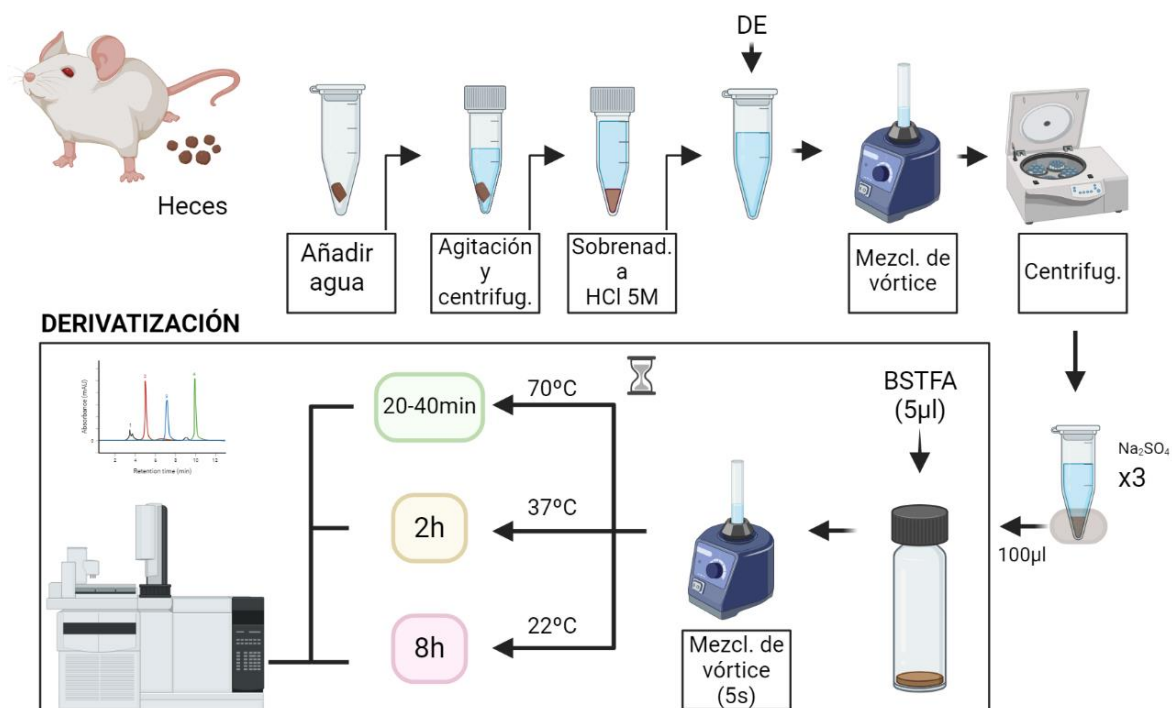


Figura 6. Preparación de muestras fecales para su análisis por GC/MS propuesta por Zhang y cols<sup>38</sup>.

Una vez procesadas y analizadas las muestras, se obtienen los cromatogramas y se identifican los AGCC en base al tiempo de retención y, en el caso de la GC/MS, en base a su espectro de masas, tras lo cual se procede a su cuantificación (Figura 7.)<sup>37</sup>

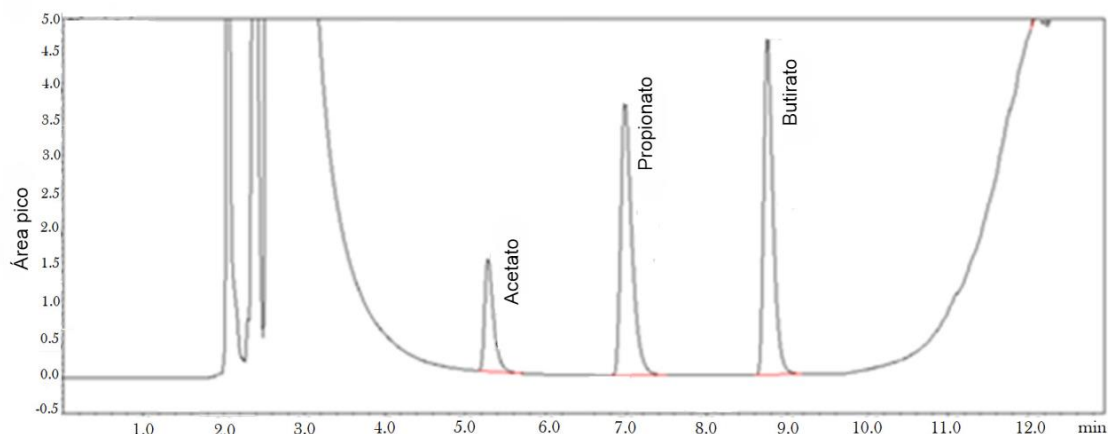


Figura 7. Cromatograma resultante de un análisis de heces. Adaptado de Ribeiro W y cols.<sup>37</sup>

Como se ha podido ver, la GC/MS es una técnica de fácil reproducibilidad, de ejecución relativamente rápida y altamente sensible. La derivatización mejora aún más la sensibilidad de la técnica, aunque aumenta el tiempo del proceso de manera considerable. En base a los objetivos y prioridades, se puede optar por aplicar este paso adicional o descartarlo.

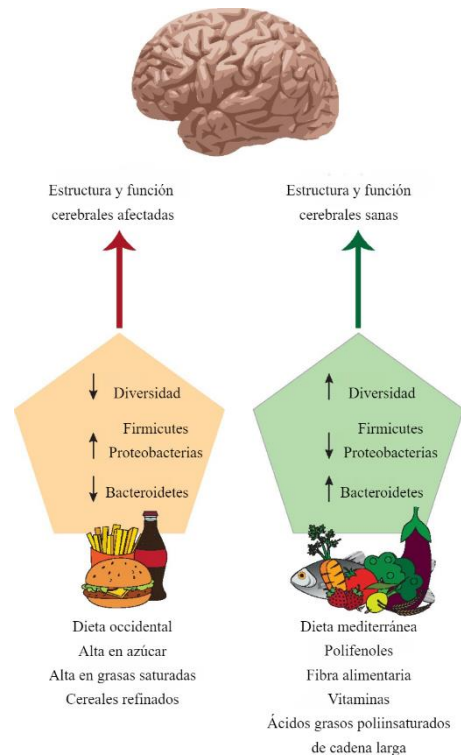
#### 4.6. CONSEJO DIETÉTICO-PROBIÓTICO EN LA FARMACIA COMUNITARIA

Tal como se ha observado a lo largo del estudio, ciertas dietas o suplementos dietéticos presentan la capacidad de alterar la composición de la microbiota intestinal, dando lugar al crecimiento de determinados taxones bacterias los cuales poseen un impacto determinante en la cognición, la actitud y la condición neurológica general.<sup>10</sup>

Las intervenciones con probióticos y prebióticos han mostrado mejoras significativas a nivel emocional y en los niveles de estrés en humanos sanos.<sup>10,18</sup> Consecuentemente, un abordaje de lo más interesante a nivel de la farmacia comunitaria es el del consejo farmacéutico respecto a la dieta y el uso de ciertos productos sanitarios con el fin de favorecer la diversidad microbiana intestinal en los pacientes y reducir así su predisposición a padecer diversas alteraciones metabólicas, intestinales y neurológicas, tan comunes como lo son hoy en día.

Actualmente, el consumo de fibra dietética se sitúa alrededor de los 16-20g/d en mujeres y 18-24g/d en varones. Atendiendo a las recomendaciones generales a nivel internacional, el consumo recomendado es de 25-35g/d, siendo de 25-32g/d en el caso de las mujeres y de 30-35g en el de los varones.<sup>5</sup> Estos valores son algo deficitarios en la mayoría de la población, limitando el desarrollo de un entorno intestinal más variado y beneficioso. Una dieta más rica en fibra, polifenoles antioxidantes, ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (necesarios para el crecimiento y maduración cerebral), y que a rasgos generales presente mayor diversidad de alimentos ayuda a los individuos a mantener unas condiciones más saludables, reduciendo el ratio de bacterias “negativas” para el entorno intestinal, del género *Firmicutes* y *Proteobacteria* fundamentalmente, las cuales se nutren de alimentos ricos en azúcares y grasas saturadas, y al mismo tiempo aportando los medios necesarios para el desarrollo de especies consumidoras de fibra del grupo de los *Bacteroidetes*, responsables de generar un entorno más variado aportando metabolitos útiles para otros taxones bacterianos y sus vías de producción de butirato.<sup>10,15</sup> Todas estas medidas dan lugar a un organismo con una mayor diversidad microbiótica y menos propenso al desarrollo de patologías relacionadas a la inflamación tisular crónica, las patologías neurológicas y al desarrollo de obesidad y/o síndrome metabólico.

Algunos taxones microbianos como *L. rhamnosus* han demostrado reducir la ansiedad en ratones, mientras que probióticos que contenían cepas de *Lactobacillus helveticus* y *Bifidobacterium longum* derivaron en una reducción del estrés psicológico, depresión, hostilidad y somatización tras 30 días de tratamiento en voluntarios sanos en varios estudios.<sup>10,17</sup> Existen numerosos productos sanitarios probióticos con cepas de estos géneros que podemos recomendar a los pacientes si detectamos sintomatología acorde.



**Figura 8. Efectos dietéticos en la microbiota y en la estructura y función cerebral. Adaptado de Tengeler AC y cols.<sup>10</sup>**



## 5. CONCLUSIONES

**I.** El butirato es el AGCC estrella a la hora de preservar la integridad intestinal. Su presencia reduce la manifestación de la condición del intestino permeable y los niveles de inflamación local intestinal y sistémica, además de potenciar la cognición y reducir la neuroinflamación. El desarrollo de suplementos dietéticos con butirato, así como con especies asociadas a su producción; véase *Akkermansia muciniphila*, es interesante para abordar patologías intestinales inflamatorias. Actualmente no existen productos en España con ninguno de estos dos elementos.

**II.** Niveles aumentados de cepas del grupo de los *Bacteroides* y *Actinobacteria* muestra en todos los casos efectos positivos en la salud del individuo, de forma destacada en la salud mental e intestinal. Su función reguladora y diversificadora de la microbiota ha demostrado mejorar la patología psicológica. En el caso de estas bacterias, sí existen muchos suplementos, probióticos e incluso alimentos que las contienen; especialmente con *Bifidobacterium*, por lo que una implementación del consumo de estos productos es útil en individuos propensos a la anhedonia, ansiedad y episodios depresivos.

**III.** El ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* es variable y paradójico en los estudios de carácter neurológico, inclinando la balanza en un sentido u otro en función del estudio. Se requiere más investigación en este ámbito y una mejor caracterización de cada subgrupo bacteriano y sus efectos. De cara al futuro, la investigación relativa al microbioma debería perfilar la función concreta de cada género y especie.

**IV.** La administración de probióticos/prebióticos y una adecuada ingesta dietética otorgan un factor protector frente a patologías metabólicas, inflamatorias y neurológicas de amplia prevalencia en nuestra sociedad, por lo que una buena concienciación a nivel sanitario y nutricional es fundamental para alcanzar una sociedad más saludable.

**V.** Los altos niveles de estrés son uno de los causantes principales de la disbiosis intestinal y en consecuencia de todos los problemas derivados de ello. Debemos tratar de reducir el estrés crónico al que están sometidos muchos pacientes con el fin de evitar la aparición de alteraciones predisponentes de enfermedad en el microbioma.

**VI.** La neuroinflamación es un factor de notable peso en la patología neurológica, y la asociación de los productos derivados de la microbiota es absolutamente directa. Una reacomodación del entorno microbiótico en individuos afectados previene y ayuda a combatir estas patologías. Investigaciones centradas en este hecho podrían esclarecer la

posible aparición de ciertas enfermedades y demostrar mayor importancia de la que se le otorga actualmente.

**VII.** La ELA no goza de tratamiento directo efectivo en nuestro país, por lo que una prevención de sus causas fisiopatológicas es el mejor enfoque posible a la hora de abordar su desarrollo. Entre los mecanismos involucrados en su aparición y empeoramiento no se consideraba el papel de los AGCC hasta hace pocos años, sin embargo, su posible implicación muestra indicios que merece la pena considerar a la hora de cuidar de los pacientes afectados. Suplementar AGCC y aumentar el consumo de fibra en los pacientes podría ser una posible opción para ralentizar la patología y el estudio de este concepto es de interés.

**VIII.** La detección de los niveles de AGCC es fundamental para comprender su papel y sus variaciones en las patologías a las que se relacionan. Su completo entendimiento facilitaría la posibilidad de establecer valores de referencia en un futuro. Por ello, el desarrollo de una buena metodología analítica que permita la detección de los AGCC en el entorno luminal es interesante, sobre todo porque los niveles luminales de estas moléculas varían mucho en periodos cortos de tiempo y el resto de matrices analíticas de estudio no reflejan este factor.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Martin-Gallausiaux C, Marinelli L, Blottière HM, Larraufie P, Lapaque N. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut. *Proc Nutr Soc.* 2021;80(1):37–49.
2. Sasso JM, Ammar RM, Tenchov R, Lemmel S, Kelber O, Grieswelle M, Zhou QA. Gut microbiome–brain alliance: A landscape view into mental and gastrointestinal health and disorders. *ACS Chem Neurosci.* 2023;14(10):1717–63.
3. Gomaa EZ. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2020;113(12):2019–40.
4. Adak A, Khan MR. An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(3):473–93.
5. Blaak EE, Canfora EE, Theis S, Frost G, Groen AK, Mithieux G, et al. Short chain fatty acids in human gut and metabolic health. *Benef Microbes.* 2020;11(5):411–55.
6. Morrison DJ, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes.* 2016;7(3):189–200.
7. Sharkey KA, Mawe GM. The enteric nervous system. *Physiol Rev.* 2023;103(2):1487–564.
8. Chanpong A, Borrelli O, Thapar N. Recent advances in understanding the roles of the enteric nervous system. *Fac Rev.* 2022;11.
9. Lucas G. Gut thinking: the gut microbiome and mental health beyond the head. *Microb Ecol Health Dis.* 2018;29(2):1548250.
10. Tengeler AC, Kozicz T, Kiliaan AJ. Relationship between diet, the gut microbiota, and brain function. *Nutr Rev.* 2018;76(8):603–17.
11. Sorboni SG, Moghaddam HS, Jafarzadeh-Esfehani R, Soleimanpour S. A comprehensive review on the role of the gut microbiome in human neurological disorders. *Clin Microbiol Rev.* 2022;35(1).
12. Loh JS, Mak WQ, Tan LKS, Ng CX, Chan HH, Yeow SH, et al. Microbiota–gut–brain axis and its therapeutic applications in neurodegenerative diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2024;9(1).
13. Ordoñez-Rodríguez A, Roman P, Rueda-Ruzafa L, Campos-Rios A, Cardona D. Changes in gut Microbiota and multiple sclerosis: A systematic review. *Int J Environ Res Public Health.* 2023;20(5):4624.

14. Vicentini FA, Keenan CM, Wallace LE, Woods C, Cavin J-B, Flockton AR, et al. Intestinal microbiota shapes gut physiology and regulates enteric neurons and glia. *Microbiome*. 2021;9(1).
15. Price CE, Valls RA, Ramsey AR, Loeven NA, Jones JT, Barrack KE, et al. Intestinal *Bacteroides* modulates inflammation, systemic cytokines, and microbial ecology via propionate in a mouse model of cystic fibrosis. *MBio*. 2024;15(2).
16. Frolova MS, Suvorova IA, Iablokov SN, Petrov SN, Rodionov DA. Genomic reconstruction of short-chain fatty acid production by the human gut microbiota. *Front Mol Biosci*. 2022;9.
17. Oleskin AV, Shenderov BA. Neuromodulatory effects and targets of the SCFAs and gasotransmitters produced by the human symbiotic microbiota. *Microb Ecol Health Dis*. 2016;27(0).
18. Van de Wouw M, Boehme M, Lyte JM, Wiley N, Strain C, O'Sullivan O, et al. Short-chain fatty acids: microbial metabolites that alleviate stress-induced brain–gut axis alterations. *J Physiol*. 2018;596(20):4923–44.
19. Nagpal R, Neth BJ, Wang S, Craft S, Yadav H. Modified Mediterranean-ketogenic diet modulates gut microbiome and short-chain fatty acids in association with Alzheimer's disease markers in subjects with mild cognitive impairment. *EBioMedicine*. 2019; 47:529–42.
20. Aizawa E, Tsuji H, Asahara T, Takahashi T, Teraishi T, Yoshida S, et al. *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* counts in the gut Microbiota of patients with bipolar disorder and healthy controls. *Front Psychiatry*. 2019;9.
21. Boddy SL, Giovannelli I, Sassani M, Cooper-Knock J, Snyder MP, Segal E, et al. The gut microbiome: a key player in the complexity of amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *BMC Med*. 2021;19(1).
22. Le Gall L, Anakor E, Connolly O, Vijayakumar U, Duddy W, Duguez S. Molecular and cellular mechanisms affected in ALS. *J Pers Med*. 2020;10(3):101.
23. Salzinger A, Ramesh V, Das Sharma S, Chandran S, Thangaraj Selvaraj B. Neuronal circuit dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Cells (Basel, Switzerland)*. 2024;13(10):792.
24. Meyer T. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) - diagnosis, course of disease and treatment options. *Dtsch Med Wochenschr* 2021; 146(24/25): 1613-1618

25. Hong D, Zhang C, Wu W, Lu X, Zhang L. Modulation of the gut–brain axis via the gut microbiota: a new era in treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Front Neurol.* 2023;14.
26. Sever B, Ciftci H, DeMirci H, Sever H, Ocak F, Yulug B, et al. Comprehensive research on past and future therapeutic strategies devoted to treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Int J Mol Sci.* 2022;23(5):2400.
27. Amado DA, Davidson BL. Gene therapy for ALS: A review. *Mol Ther.* 2021;29(12):3345–58.
28. Jaiswal MK. Riluzole and edaravone: A tale of two amyotrophic lateral sclerosis drugs. *Med Res Rev.* 2019;39(2):733–48.
29. Gentile F, Doneddu PE, Riva N, Nobile-Orazio E, Quattrini A. Diet, Microbiota and brain health: Unraveling the network intersecting metabolism and neurodegeneration. *Int J Mol Sci.* 2020;21(20):7471.
30. Di Gioia D, Bozzi Cionci N, Baffoni L, Amoruso A, Pane M, Mogna L, et al. A prospective longitudinal study on the microbiota composition in amyotrophic lateral sclerosis. *BMC Med.* 2020;18(1).
31. Obrenovich M, Jaworski H, Tadimalla T, Mistry A, Sykes L, Perry G, Bonomo R. The role of the Microbiota–gut–brain axis and antibiotics in ALS and neurodegenerative diseases. *Microorganisms.* 2020;8(5):784.
32. Lee A, Henderson R, Aylward J, McCombe P. Gut symptoms, gut dysbiosis and gut-derived toxins in ALS. *Int J Mol Sci.* 2024;25(3):1871.
33. Primec M, Mičetić-Turk D, Langerholc T. Analysis of short-chain fatty acids in human feces: A scoping review. *Anal Biochem.* 2017;526:9–21.
34. Liebisch G, Ecker J, Roth S, Sabine Schweizer, Öttl V, Schött H-F, et al. Quantification of fecal short chain fatty acids by liquid chromatography tandem mass spectrometry—investigation of pre-analytic stability. *Biomolecules.* 2019;9(4):121.
35. Chalova P, Tazky A, Skultety L, Minichova L, Chovanec M, Ciernikova S, et al. Determination of short-chain fatty acids as putative biomarkers of cancer diseases by modern analytical strategies and tools: a review. *Front Oncol.* 2023;13.
36. Skonieczna-Żydecka K, Grochans E, Maciejewska D, Szkup M, Schneider-Matyka D, Jurczak A, et al. Faecal short chain fatty acids profile is changed in polish depressive women. *Nutrients.* 2018;10(12):1939.

37. Ribeiro W, Vinolo M, Calixto L, Ferreira C. Use of gas chromatography to quantify short chain fatty acids in the serum, colonic luminal content and feces of mice. *Bio Protoc.* 2018;8(22).
38. Zhang S, Wang H, Zhu M-J. A sensitive GC/MS detection method for analyzing microbial metabolites short chain fatty acids in fecal and serum samples. *Talanta.* 2019;196:249–54.
39. Rohde JK, Fuh MM, Evangelakos I, Pauly MJ, Schaltenberg N, Siracusa F, et al. A gas chromatography mass spectrometry-based method for the quantification of short Chain Fatty Acids. *Metabolites.* 2022;12(2):170.
40. Smith M, Polite L, Christy A, Edirisinghe I, Burton-Freeman B, Sandhu A. An improved validated method for the determination of short-chain fatty acids in human fecal samples by gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID). *Metabolites.* 2023;13(11):1106.
41. Díaz-Corona LR, Parra-Saavedra KJ, Mora-Alonzo RS, Macías-Rodríguez ME, Martínez-Preciado AH, Guevara-Martínez SJ, et al. HPLC-DAD development and validation method for short-chain fatty acids quantification from chicken feces by solid-phase extraction. *Separations.* 2023;10(5):308.
42. Marques L, Cazarin C, Bicas J, Maróstica Junior M, Carrilho E, Bogusz Junior S. Determination of short chain fatty acids in mice feces by capillary electrophoresis. *J Braz Chem Soc.* 2019;30(6):1326–34.
43. Cai J, Zhang J, Tian Y, Zhang L, Hatzakis E, Krausz KW, et al. Orthogonal comparison of GC–MS and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy for short chain fatty acid quantitation. *Anal Chem.* 2017;89(15):7900–6.

# 7. ANEXO

