



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias
Médicas, Odontológicas y de la Salud

Doctorado en Ciencias campo del conocimiento en Investigación Clínica
Experimental en Salud
Campo disciplinario: Bioquímica Clínica

**“EVALUACIÓN ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL DE LA MICROBIOTA INTESTINAL VINCULADA AL
METABOLISMO DEL ÁCIDO ÚRICO EN PACIENTES CON ARTRITIS GOTOSA CON Y SIN TOFOS”**

TESIS

Que para optar por el grado de
Doctor en Ciencias

PRESENTA

M. en C. Eder Orlando Méndez Salazar

TUTORÍA: Dra. Berenice Palacios González
Instituto Nacional de Medicina Genómica

Dra. Gabriela Martínez Nava
Instituto Nacional de Rehabilitación
“Luis Guillermo Ibarra Ibarra”

COMITÉ TUTOR: Dra. Nora Janitzia Vazquez Mellado
Hospital General de México “Eduardo Liceaga”
Dr. Samuel Canizales Quinteros
Instituto Nacional de Medicina Genómica
Dra. Laura Gabriela Sánchez Lozada
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”
Dra. Eloisa Colin Ramírez
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., JUNIO 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

CONTENIDO

ÍNDICE.....	10
RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. MARCO TEÓRICO	
2.1 Ácido úrico (AU).....	10
2.2 Metabolismo de AU.....	11
2.2.1. Generación endógena de AU.....	11
2.2.2 Síntesis <i>de novo</i> del anillo de purinas y síntesis de monofosfato de inosina (IMP)	11
2.2.3 Degradación de purinas y producción de AU.....	12
2.2.4 Excreción de AU.....	13
2.2.5 Aporte de purinas dietéticas.....	14
2.2.6 patogenia de la gota.....	15
2.2.7 Estadios y elementos característicos en la gota.....	15
2.2.8 Criterios de clasificación para diagnóstico de gota.....	17
2.3 Epidemiología de la enfermedad.....	18
2.3.1 Etiología de la enfermedad.....	20
2.3.2 Reabsorción y sub-excreción de AU.....	20
2.3.4 Influencia de la dieta en gota.....	21
2.3.5 Hormonas uricosúricas.....	23
2.3.6 Excreción intestinal de AU.....	23
2.4 La microbiota intestinal bacteriana y su aportación de metabolitos en el hospedero.....	24
2.5 Microbioma intestinal y producción de vitaminas.....	25
2.6 Microbioma intestinal y producción de aminoácidos.....	26
2.7 Metabolismo final de purinas y el catabolismo de los ureidos.....	28
3. ANTECEDENTES.....	30
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	32
5. JUSTIFICACIÓN.....	33

6. HIPÓTESIS	35
7. OBJETIVOS	36
7.1 Objetivo general.....	36
7.1.1 Objetivos específicos.....	36
8. MATERIAL Y MÉTODOS	37
8.1 Tipo de estudio.....	37
8.2 Descripción del universo de trabajo.....	37
8.3 Criterios de selección.....	38
8.3.1 Criterios de inclusión.....	38
8.3.2 Criterios de exclusión	39
8.3.3 Criterios de eliminación.....	39
8.4 Aplicación de cuestionario.....	39
8.5 Análisis bioquímicos sanguíneos.....	39
8.6 Análisis de dieta.....	40
8.7 Procesamiento de heces.....	40
8.8 Extracción de DNA bacteriano de heces.....	40
8.9 Cuantificación de DNA.....	40
8.9.1 Amplificación por PCR del gen ribosomal ARNr 16S.....	41
9. Análisis estadístico y bioinformático.....	42
10. RESULTADOS	44
10.1 Análisis de variables bioquímicas y antropométricas.....	44
10.2 Análisis de dieta (kilocalorías y macronutrientos).....	45
10.3 Diversidad alfa de las comunidades bacterianas en el microbioma intestinal de los grupos de estudio.....	46
10.4 Abundancias de las variantes de secuencias de amplicón (ASVs) a nivel de filo.....	47
10.5 Abundancias de las variantes de secuencias de amplicón (ASVs) a nivel de género....	48
10.6 Determinación de una microbiota intestinal compartida en grupos con gota.....	53
10.7 Predicción funcional de las bacterias comunes de la microbiota intestinal de los pacientes con gota.....	58
10.8 Predicciones de la actividad funcional detectada por KEGG entre los grupos de estudio.....	61
11. DISCUSIÓN	63

12. CONCLUSIONES.....	73
13. REFERENCIAS.....	74
14. ANEXOS.....	87

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas

		Página
Tabla 1.	Descripciones textuales de los elementos básicos de la enfermedad de la gota publicadas por el G-CAN	16
Tabla 2.	Etiquetas y definiciones aprobadas por el G-CAN de los elementos básicos de la enfermedad de la gota	17
Tabla 3.	Definiciones y consideraciones de los criterios ACR/EULAR para diagnóstico de gota en la práctica clínica.	19
Tabla 4.	Primers específicos de las regiones hipervariables V3-V4 del gen ribosomal ARNr 16S	41
Tabla 5.	Adaptadores de Illumina	41
Tabla 6.	Estadísticos y resultados de las variables antropométricas y bioquímicas en grupos de gota y controles	44
Tabla 7.	Análisis descriptivo del consumo de kilocalorías y macronutrimiento en 24 horas por grupo de estudio	45

Figuras

Figura 1.	Estructura química del AU	10
Figura 2.	Estructura básica bicíclica del anillo de purinas	12
Figura 3.	Metabolismo de purinas y excreción de ácido úrico	14
Figura 4	Cápsula articular	15
Figura 5.	Influencia de la dieta en gota	22
Figura 6.	Modelo de transportador de AU bacteriano	24
Figura 7.	Catabolismo de los ureidos	29
Figura 8.	Diagrama de flujo	37
Figura 9.	Diversidad alfa de comunidades bacterianas en el microbioma de los grupos de estudio.	46
Figura 10.	Abundancia relativa de los ASVs a nivel de filo	47
Figura 11.	Abundancia relativa de los ASVs de 35 géneros comparables en pacientes con gota y controles	49
Figura 12.	Cambio de magnitud (fold-change) de las abundancias relativas de los géneros bacterianos entre los grupos de gota y grupo control	51
Figura 13	Análisis discriminante lineal (LDA)	52
Figura 14.	Diagrama de Venn de los ASVs compartidos entre los grupos de estudio	53
Figura 15.	Gráfico Krona de la composición taxonómica de los grupos de gota.	54
Figura 16.	Gráfico Krona de la composición taxonómica dentro del orden <i>Bacteroidales</i> en los grupos de gota	55
Figura 17.	Gráfico Krona de los principales ASVs compartidos entre los controles y los pacientes con gota	56
Figura 18.	Gráfico Krona de los principales ASVs compartidos entre los controles y los pacientes con gota tofácea	57
Figura 19.	Análisis de predicción de las interacciones proteína-proteína STRING (<i>Bacteroides caccae</i>)	58
Figura 20.	Análisis de predicción de las interacciones proteína-proteína STRING (<i>Bacteroides stercoris</i> ATCC 43183)	59
Figura 21.	Análisis de predicción de las interacciones proteína-proteína STRING (<i>Bacteroides coprocola</i> DSM 17136 y <i>Bacteroides stercoris</i> ATCC 43183).	60
Figura 22.	Características metabólicas bajo la predicción KEGG entre los grupos de estudio	62

ABREVIATURAS

AU	Ácido úrico
N ¹⁰ -f-THF	10-formil- tetrahidrofolato
IMP	Inosina monofosfato
AMP	Adenosín monofosfato
GMP	Guanosín monofosfato
PRPP	5-fosforribosil-pirofosfato
PNP	Purina nucleósido fosforilasa
XO	Xantina oxidasa
CUM	Cristales de urato monosódico
G-CAN	El proyecto de la red de gota, hiperuricemia y enfermedades asociadas a cristales
ACR	Colegio Americano de Reumatología
EULAR	Liga Europea Contra el Reumatismo
UAT	Transportador de urato
AGCC	Ácidos grasos de cadena corta
SAM	S-adenosilmetiionina
SAH	S-adenosilhomocisteína
PucG	Proteína putativa del catabolismo de purinas
ASVs	Variantes de secuencia de amplicón
PPI	Interacción proteína-proteína
GSC	Sistema de clivaje de glicina

RESUMEN

El ser humano produce 620 mg de ácido úrico al día, de los cuales el 30% se excreta por el intestino, donde algunas bacterias que componen el microbioma intestinal son capaces de catabolizarlo. En este estudio se evaluó la composición taxonómica y la predicción funcional del microbioma intestinal en pacientes con artritis gotosa con y sin tofos, que podrían tener un impacto en vías vinculadas al metabolismo del ácido úrico. Se efectuó la secuenciación del amplicón de las regiones V3-V4 del gen ARNr 16S de muestras fecales. El estudio se realizó con un grupo de pacientes con gota tofácea (n=33) y otro grupo con gota no tofácea (n=25). Cada resultado se comparó contra individuos sin la enfermedad (n=53). Se identificó un microbioma caracterizado por la disminución de los índices de alfa diversidad (riqueza), en pacientes con gota sin tofos en comparación con los controles. Un panel de 4 variantes de secuencias de amplicones (ASVs) a nivel de género fue abundante en el grupo de gota sin tofos comparado con el grupo control que incluyó: *Phascolarctobacterium*, *Bacteroides*, *Akkermansia*, y el grupo *Ruminococcus_gnavus_1*. En los pacientes con gota tofácea, el filo más abundante fue *Proteobacteria* comparado con los controles. Un aumento significativo del género *Escherichia-Shigella* acompañó dicho enriquecimiento. El análisis de cambio de magnitud detectó nueve géneros sub-representados en los dos grupos con gota en comparación con el grupo control, incluyendo *Bifidobacterium*, *Butyrivibrio*, *Oscillospira*, *Ruminococcaceae_UCG_010*, *Lachnospiraceae_ND2007_group*, *Haemophilus*, *Ruminococcus_1*, *Clostridium_sensu_stricto_1*, y *Ruminococcaceae_UCG_013*. Se detectó un microbioma común/compartido, con la presencia de 130 ASVs comunes entre los dos grupos de gota. Se reveló la presencia de tres especies de *Bacteroidales* (*Bacteroides caccae*, *Bacteroides stercoris* ATCC 43183 y *Bacteroides coprocola*), dentro del microbioma compartido en pacientes con gota, que podrían realizar funciones vinculadas al metabolismo de un carbono, la unión de nucleótidos, la biosíntesis de aminoácidos y la biosíntesis de purinas. Por último, la predicción funcional mostró mayor actividad en las principales enzimas bacterianas que participan en la síntesis, degradación y eliminación del urato. Nuestros hallazgos revelaron que las variaciones taxonómicas en el microbioma intestinal de los pacientes de gota con y sin tofos podrían tener un impacto funcional en el metabolismo del urato. Esta información puede contribuir a una mejor comprensión de la participación de las bacterias intestinales en el desarrollo de la gota.

ABSTRACT

Humans produce 620 mg of urate daily, of which 30% is excreted by the intestine, where some microorganisms making up the gut microbiome can catabolize it. Here, we evaluated the taxonomic composition of the gut microbiome in gout patients with and without tophi, and predict bacterial functions that might have an impact on urate metabolism. Hypervariable V3-V4 regions of 16S rRNA gene from fecal samples of gout patients with and without tophi (n=33 and n=25, respectively) were sequenced and compared to 53 healthy controls. We explored predictive functional profiles to identify differences in taxonomy and metabolic pathways. We identified a microbiome characterized by the lowest richness and a higher abundance of *Phascolarctobacterium*, *Bacteroides*, *Akkermansia*, and *Ruminococcus_gnavus_group* genera in patients with gout without tophi when compared to controls. The *Proteobacteria* phylum and the *Escherichia-Shigella* genus were more abundant in patients with tophaceous gout than in controls. Fold change analysis detected nine genera enriched in healthy controls compared to gout groups (*Bifidobacterium*, *Butyricoccus*, *Oscillobacter*, *Ruminococcaceae_UCG_010*, *Lachnospiraceae_ND2007_group*, *Haemophilus*, *Ruminococcus_1*, *Clostridium_sensu_stricto_1*, and *Ruminococcaceae_UGC_013*). We found that the core microbiome of both gout groups shared *Bacteroides caccae*, *Bacteroides stercoris ATCC 43183*, and *Bacteroides coprocola DSM 17136*. These bacteria might perform functions linked to one-carbon metabolism; nucleotide binding; and amino acid, and purine biosynthesis. We observed differences in bacterial enzymes involved in urate synthesis, degradation, and elimination. Conclusions: Our findings revealed that taxonomic variations in the gut microbiome of gout patients with and without tophi might have a functional impact on urate metabolism.

1. INTRODUCCIÓN

La gota, es la forma más común de artritis inflamatoria, y es el resultado de la hiperuricemia crónica y la consiguiente formación y depósito de cristales de urato monosódico (CUMs) en el cartílago articular, tejidos articulares y extraarticulares, con una consecuente respuesta inflamatoria ^(1, 2). La presentación clínica de la enfermedad incluye frecuentes ataques agudos y un estadio crónico que consiste en el depósito crónico de CUMs intraarticular, denominados tofos ⁽³⁾. La hiperuricemia crónica es el resultado de factores ambientales y de un antecedente genético para la producción de ácido úrico (AU), así como de su excreción renal e intestinal ⁽⁴⁻⁶⁾. Aunque los procesos evolutivos y adaptativos en los seres humanos han inactivado a la uricasa, responsable de la degradación del AU en alantoína ^(7, 8), ciertas bacterias que residen en el intestino pueden metabolizar un tercio de la síntesis diaria de AU producida tanto de forma endógena, como el procedente de las purinas de la dieta (exógeno) ^(9, 10). Shao et al. descubrieron que existen cambios metabólicos en el microbioma fecal de los pacientes con gota. En dicha caracterización se encontró alteraciones en metabolitos implicados en la excreción de AU y cambios en los aminoácidos directamente responsables de la biosíntesis de nucleósidos de purina. También identificaron un enriquecimiento de patógenos oportunistas y una disminución de la diversidad α ⁽¹¹⁾. Otro estudio reveló una disbiosis intestinal en pacientes con gota y demostró que los *Bacteroides* eran comunes y abundantes en sus microbiomas intestinales de los pacientes con artritis gotosa, en comparación con los individuos sin la enfermedad ⁽¹²⁾. Lim et al. demostraron que en enterotipos caracterizados por enriquecimiento de *Bacteroides* hay enriquecimiento de la enzima 5-hidroxisourato hidrolasa, que desempeña un papel crucial en la uricolisis intestinal ⁽¹³⁾. Actualmente, no hay estudios en poblaciones occidentales que aborden la caracterización y diferenciación del microbioma intestinal de pacientes con gota sin tofos, o con al menos un tofo subcutáneo (detectable mediante examen físico) ⁽¹⁴⁾. En este estudio, presentamos una descripción robusta del microbioma intestinal de pacientes mexicanos con artritis gotosa con y sin tofos y lo comparamos con el de sujetos sanos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Ácido úrico (AU)

El AU es un producto final del metabolismo de las purinas, las cuales forman la columna vertebral del ácido desoxirribonucleico (ADN), y se consideran componentes fundamentales de cada célula viva (Figura1). El AU en el medio ambiente es una fuente rica de nitrógeno en la cadena alimenticia universal ⁽¹⁵⁾. Químicamente, esta molécula es un ácido orgánico débil con un pKa de 5.75 que en el cuerpo humano está presente en un 98% en su forma ionizada como urato a un valor de pH fisiológico de 7.4 ⁽¹⁶⁾, circulando en plasma como urato de sodio, ya que menos del 5% se une a proteínas plasmáticas. Tanto el AU como el urato de sodio tienen una solubilidad baja en soluciones acuosas; sin embargo, ambos compuestos pueden formar coloides en los fluidos biológicos y debido a esta propiedad pueden formar soluciones sobresaturadas^(17, 18).

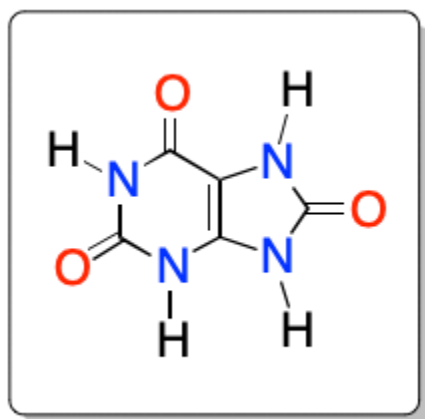


Figura 1. Estructura química del AU. C₅H₄N₄O₃ tomada de: <http://www.lesch-nyhan.org/en/definition/biochemistry/uric-acid/>. El AU es una molécula bicíclica, tiene como grupo funcional la purina con un equilibrio ceto-enólico en la posición 2, con un grupo hidroxilo y 2 átomos de nitrógeno que flanquean las posiciones 1 y 3, comparten la carga iónica de los seis miembros estabilizados por la resonancia del anillo.

2.2 Metabolismo de AU

2.2.1 Generación endógena de AU

En condiciones fisiológicas normales, el AU se genera principalmente en el hígado y en el intestino, a partir del catabolismo de purinas endógenas, con una tasa de síntesis diaria relativamente constante entre 300 y 400 mg. En hombres sanos, la capacidad total de almacenamiento corporal de AU es de 1200 mg y en mujeres supone unos 600 mg ⁽¹⁹⁻²¹⁾.

2.2.2 Síntesis de novo del anillo de purinas y síntesis de monofosfato de inosina (IMP)

Las materias primas para la síntesis de las purinas son: el dióxido de carbono, algunos aminoácidos no esenciales y derivados del ácido fólico, que actúan ya sea como donadores de un átomo carbono o de nitrógeno según su posición dentro del anillo pentacíclico o hexacíclico. En la figura 2 se ilustra el orden en el cual los átomos del anillo de purinas son conformados: N-9 de glutamina; C-4, C-5 y N-7 de glicina; C-2 y C-8 de N¹⁰-formil- tetrahidrofolato (THF); N-3 de glutamina; C-6 del CO₂, y N-1 de aspartato ⁽²²⁾.

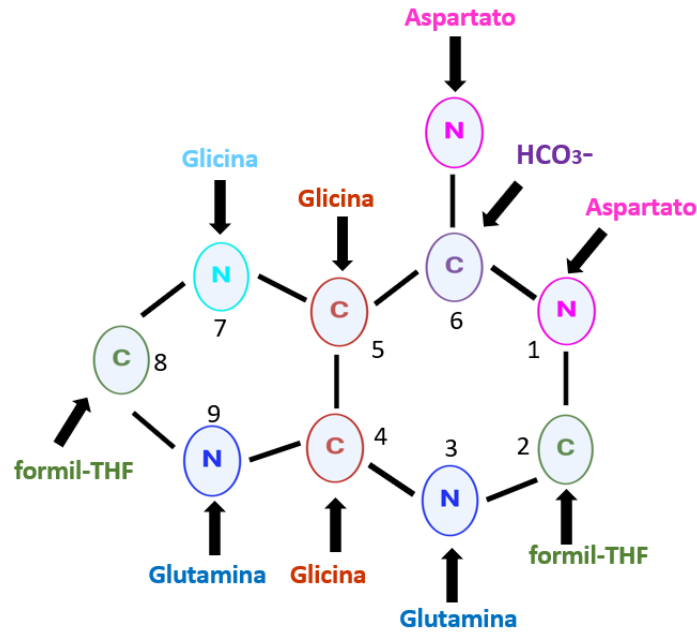


Figura 2. Estructura básica bicíclica del anillo de purinas. Los círculos con las letras N y C coloreadas representan los distintos compuestos (aminoácidos, formil-THF y CO₂ en su forma ionizada); que, situados en los diferentes posicionamientos dentro de los anillos, conforman la distribución carbonada y nitrogenada de la estructura general de las purinas.

La biosíntesis de purinas inicialmente emplea como material de partida una ribosa 5-fosfato, producto proveniente de la vía de las pentosas fosfato. El producto final de esta ruta biosintética es la inosina 5'-monofosfato (IMP). El primer paso, consiste en la catálisis por medio de la ribosa fosfato pirofosfocinasa (PRPP sintetasa), para generar la forma activada de la pentosa fosfato por transferencia de un grupo pirofosfato a partir del ATP para formar 5-fosforribosil-pirofosfato (PRPP). En una serie de 10 reacciones que requieren cinco moléculas de ATP, PRPP se convierte en el ribonucleótido IMP, considerado el primer producto de las purinas y el precursor común de adenosín monofosfato (AMP) y guanósín monofosfato (GMP)⁽²³⁾.

2.2.3 Degradación de purinas y producción de AU.

Los nucleótidos de purinas son sintetizados de forma preferente por las vías de recuperación o salvamento, siempre que se disponga de bases nucleotídicas libres. La hidrólisis de IMP produce el nucleósido inosina, que, a su vez, se convierte a

hipoxantina por la purina nucleósido fosforilasa (PNP). Posteriormente, actúa una enzima conocida como xantina oxidorreductasa (XO), que con dos isoformas en los peroxisomas celulares, es la encargada de catalizar las dos reacciones terminales de la vía de degradación de purinas en el humano; la oxidación de la hipoxantina para formar xantina y la generación del producto final AU (Figura 3) ⁽⁷⁾.

La eliminación hidrolítica de AMP y GMP produce adenosina y guanosina respectivamente. La adenosina es desaminada a inosina por la acción de la adenosina desaminasa. Asimismo, una nucleósido fosforilasa, descompone los nucleósidos de adenosina en su respectiva base mediante una reacción de fosforólisis. En el caso de la guanosina, la fosforólisis es llevada a cabo para producir guanina ⁽²⁴⁾. En la mayoría de las células la guanina es desaminada a xantina, en una reacción que es catalizada por la enzima guanasa (guanosina aminohidrolasa) ⁽²⁵⁾. Por otro lado, la adenina desaminasa cataliza la producción de hipoxantina, que sigue el proceso catabólico para formar xantina y AU respectivamente ⁽²⁶⁾.

2.2.4. Excreción de AU

En los seres humanos el riñón es el responsable del 60-70% de la excreción total de AU, equivalente a $(620 \pm 75 \text{ mg/día})$ ⁽⁵⁾. En cambio, un tercio del AU total, se excreta a través del tracto gastrointestinal (Figura 3) ⁽²⁰⁾. Sin embargo, en enfermedad renal crónica aumenta significativamente la excreción intestinal del AU como mecanismo compensatorio⁽²⁷⁾.

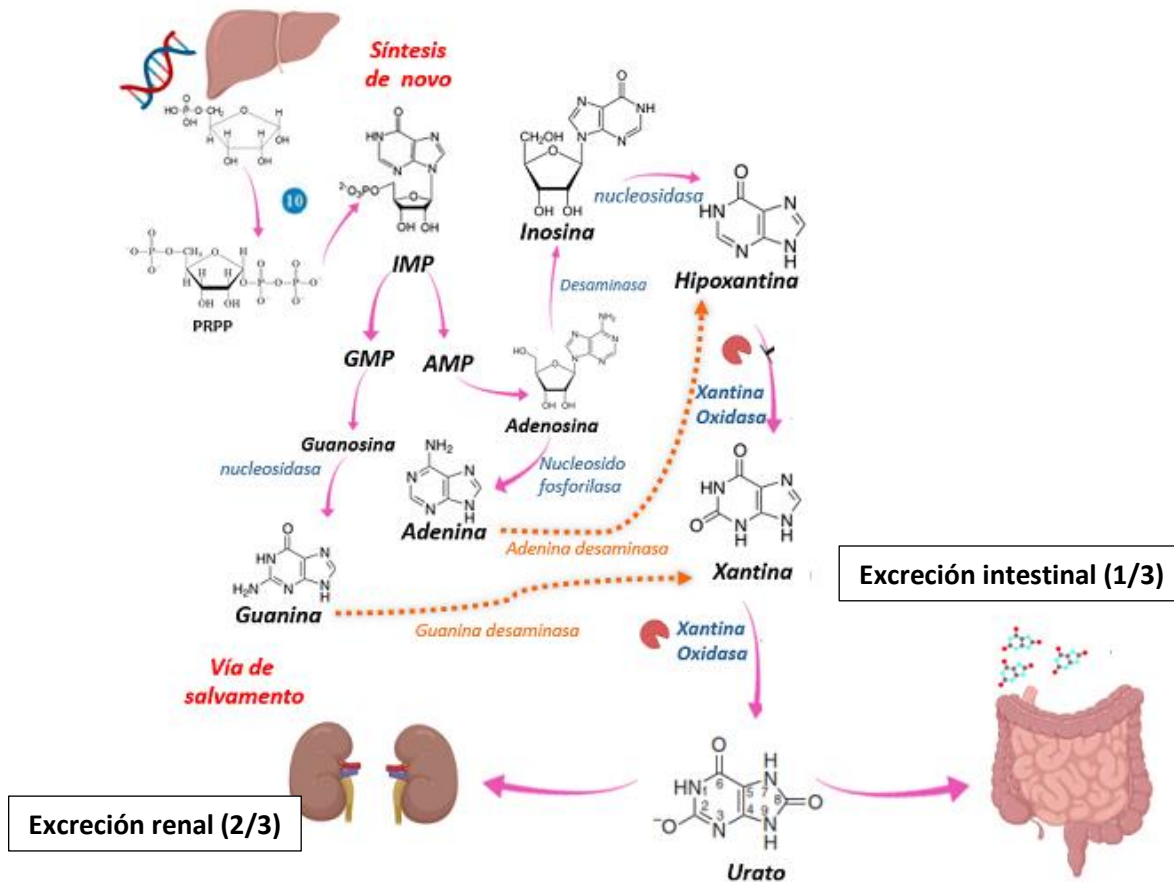


Figura 3. Metabolismo de purinas y excreción de ácido úrico. Conversión del DNA y RNA a ácido úrico y excreción vía intestinal y renal. En letra azul se muestran las enzimas participantes en la síntesis *de novo* para la formación de purinas y AU. Las flechas en color naranja, se muestran los enzimas participantes en la vía de salvamento de purinas.

2.2.5. Aporte de purinas dietéticas.

Algunos tejidos tienen una capacidad limitada para sintetizar nucleótidos *de novo*, por lo que requieren componentes dietéticos, esencialmente bases púricas, que deben ser suministradas exógenamente para ser utilizadas por la vía de salvamento. Así, por ejemplo, la mucosa intestinal, la células hematopoyéticas de la médula ósea, leucocitos, los eritrocitos y linfocitos son incapaces de ejecutar la síntesis *de novo* de purinas. Por lo tanto, la aportación dietética puede ser de vital importancia para estas células ⁽²⁸⁾. La contribución diaria aproximada de purinas exógenas (dietéticas) oscila entre 300-400 mg, suponiendo una ingesta recomendada de purinas ⁽²⁰⁾.

2.2.6. Patogenia de la gota

Los CUM tienden a depositarse en tejidos relativamente pobres en vascularización, primariamente en el cartílago donde se depositan de una forma ordenada, para después diseminarse a la membrana sinovial ⁽²⁹⁾. La membrana sinovial, que contiene sinoviocitos metabólicamente activos, es fisiológicamente importante, ya que alimenta a los condrocitos a través del líquido sinovial y espacio articular, reviste las articulaciones, lubrica las superficies y sirve como soporte a la articulación (Figura 4) ⁽³⁰⁾.

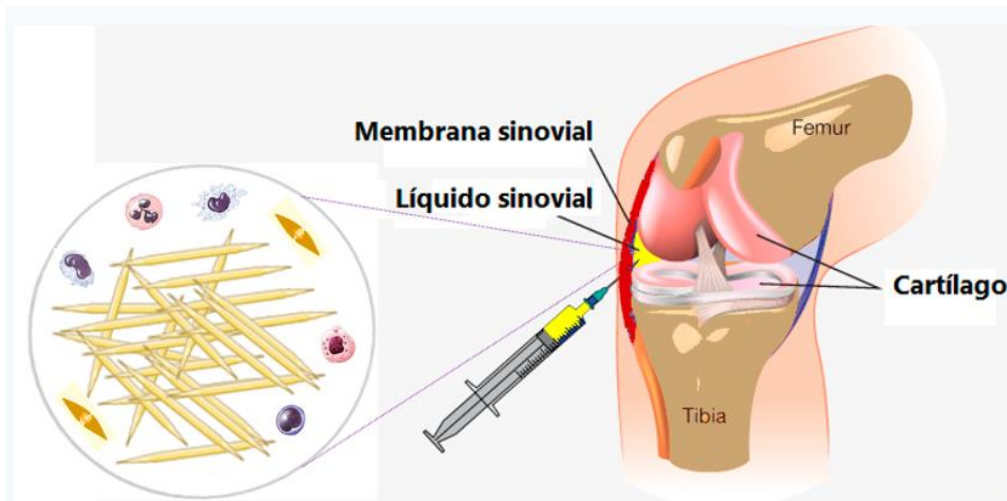


Figura 4. Cápsula articular. Anatomía de una articulación donde se muestra el depósito de CUM en la membrana sinovial y la reacción inflamatoria que desencadena ocasionando hipertermia y eritema articular.

2.2.7. Estadios y elementos característicos en la gota

Se han descrito cuatro estadios clínicos: hiperuricemia asintomática, artritis gotosa aguda o brote de gota, gota intercrítica y artritis gotosa crónica (con tofos) ⁽³¹⁾. No obstante, a pesar de las técnicas utilizadas actualmente para esclarecer los estadios de la gota, se carece de una estandarización, precisión y claridad en términos de su conceptualización y clasificación. El proyecto de la red de gota, hiperuricemia y enfermedades asociadas a cristales (G-CAN), publicado en 2019, señaló las etiquetas y definiciones de los elementos básicos que componen a la enfermedad;

esto a su vez, permite el uso de una nomenclatura estandarizada a las redes científicas en las actividades relacionadas a la investigación de la gota ⁽¹⁴⁾. Los elementos básicos de la gota identificados en la literatura, y publicada por el G-CAN, se muestran en la tabla 1. En la tabla 2 se muestran las definiciones de los componentes de la enfermedad.

1. Los cristales patogénicos en la gota
2. La forma circulante del producto enzimático final generado por la xantina oxidasa el metabolismo de purinas en los humanos
3. Un elevado nivel de circulación del producto enzimático final generado por la xantina oxidasa en el metabolismo de purinas en los humanos
4. Un episodio de inflamación aguda desencadenado por la presencia de cristales patogénicos
5. La condición en la que hay una ausencia de inflamación clínicamente evidente después o entre episodios de inflamación aguda
6. Inflamación persistente inducida por cristales patogénicos
7. Colección de cristales patogénicos con tejido asociado de respuesta al huésped
8. Una colección discreta de cristales patogénicos con tejido asociado de respuesta al huésped, detectable en examen físico
9. La presencia de depósitos de cristales patogénicos en las imágenes
10. La presencia de daño óseo estructural debido a la gota
11. Un episodio de inflamación aguda de la primera articulación metatarsofalángica

Tabla 1. Descripciones textuales de los elementos básicos de la enfermedad de la gota publicadas por el G-CAN.

Componentes comunes de la gota según los estándares del G-CAN	Definición
1. Cristales de urato monosódico	Los cristales patogénicos en la gota (fórmula química: $C_5H_4N_4NaO_3$)
2. Urato	La forma circulante del producto enzimático final generado por la xantina oxidasa en el metabolismo de purina en los seres humanos (fórmula química: $C_5H_3N_4O_3$)
3. Hiperuricemia	La elevada concentración de urato en la sangre por encima del umbral de saturación
4. Gota aguda	Episodio clínicamente evidente de inflamación aguda inducida por cristales de urato monosódico.
5. Gota intercrítica	El período asintomático después o entre los brotes de gota, a pesar de la persistencia de los cristales de urato monosódico.
6. Artritis gotosa crónica	La persistente inflamación de las articulaciones inducida por cristales de urato monosódico
7. Tofos	Una estructura ordenada de cristales de urato monosódico y la respuesta asociada de los tejidos del huésped
8. Tofos subcutáneos	Un tofo que se puede detectar por medio de un examen físico
9. Evidencia de imagen de Cristales de urato monosódico	Los hallazgos que son altamente sugestivos de cristales de urato monosódico en una prueba de imagen
10. Gota (Erosión de huesos)	La evidencia de una ruptura cortical en el hueso que sugiere la gota (Borde saliente con margen esclerótico)
11. Podagra	Un brote de gota en la articulación 1ra metatarsofalángica

Tabla 2. Etiquetas y definiciones aprobadas por el G-CAN de los elementos básicos de la enfermedad de la gota.

2.2.8. Criterios de clasificación para diagnóstico de gota

La clasificación de gota deriva de los criterios clínicos del Colegio Americano de Reumatología (ACR) y la Liga Europea Contra el Reumatismo (EULAR), cuyos datos demuestran ser de gran utilidad en la práctica clínica diaria ⁽³²⁾. Estos criterios han sido validados cuantitativamente por un grupo de expertos, que determinó la inclusión de ciertas características que establecen la presencia de la enfermedad mediante rasgos particulares como la existencia de CUM, el patrón implicado de la articulación, intensidad de los episodios sintomáticos, tiempo de dolor máximo y su

resolución, la naturaleza episódica de los síntomas, presencia clínica de tofos, niveles de AU, características de imagen y respuesta al tratamiento ⁽³³⁾.

De entrada, el estándar de oro para diagnosticar gota es la existencia de los CUM en una articulación sintomática o bursa (es decir, en el líquido sinovial) y la presencia de tofos. En la tabla 3 se resumen dichos criterios con sus respectivas definiciones. Los dominios incluyen parámetros clínicos (números 1-4), parámetros de laboratorio (números 5 y 6) y parámetros de imágenes (números 7 y 8). Cada criterio posee un sistema de puntuación donde la máxima calificación posible es 23; y se considera que una puntuación ≥ 8 establece la presencia de gota en un individuo. Un aspecto único de los nuevos criterios de clasificación es que existen dos categorías que provocan puntuaciones negativas. Específicamente, si el líquido sinovial es negativo a CUM, se restan 2 puntos de la puntuación final. Asimismo, si el nivel de AU en suero es < 4 mg/dL ($< 0,24$ mmol/L), se restan 4 puntos de la puntuación total y si no se realiza la toma de imágenes, se califican como 0 ⁽³³⁾.

2.3 Epidemiología de la enfermedad

Actualmente se reconoce que la gota es la artritis inflamatoria más común, asociada a altas tasas de morbilidad y mortalidad, con una prevalencia cada vez mayor en hombres, independientemente de la situación socioeconómica. Se ha informado que la prevalencia de la gota varía entre el 0.1 y aproximadamente el 10%, habiéndose identificado las mayores proporciones entre los aborígenes tailandeses.

Estimaciones del Estudio Global de la Carga de Morbilidad de enfermedad (GBD), muestran que la carga de gota ha aumentado en 49% entre 1990 a 2010 ⁽³²⁾. Se estima que en las diferentes regiones del mundo la prevalencia se encuentra entre el 1 y el 4%.

En países occidentales, la prevalencia de la gota entre los adultos (≥ 20 años) oscila entre 0.5 a 3.9%, según datos de la Encuesta Nacional de Examen de la Salud y la Nutrición (NHANES) 2007-2008. El aumento de la prevalencia entre los varones

mayores es más llamativo, con una prevalencia del 4.5 al 10 % entre 1956 y 1984 que aumentó al 13.9 % en 1992 y al 18.4 % en 2011 ^(33, 34).

Un estudio reciente con base en una gran población examinó en términos de tasa de mortalidad específica, que las personas con gota poseen asociaciones de magnitud alta con el riesgo de muerte por enfermedad renal, enfermedades del sistema digestivo, enfermedades cardiovasculares, infecciones y demencias ⁽³⁵⁾.

Definiciones	Dominio	Puntos
1. Patrón: articulación (es) afectadas durante algún episodio asintomático mono/oligoarticular	Tobillo o tarso	1
	1ra Metatarso falángica	2
2. Características del episodio sintomático en la articulación afectada: (Eritema/intolerancia al tacto/dificultad para caminar o mover la articulación)	Características	
	1	1
	2	2
	3	3
3. Tiempo y duración durante el episodio asintomático. Presencia >2 en algún momento, independientemente de tratamiento: Acme en < 24 horas/ resolución completa entre episodios	Episodios/Típicos	
	Uno	1
	Recurrentes	2
4. Tofo clínicamente evidente. (Drenado de material, nódulo subcutáneo, piel transparente, con más vascularidad y en sitios típicos)	Presente	4
5. Concentraciones de ácido úrico sérico idealmente sin tratamiento y 4 semanas después de un cuadro agudo. Considerar valor más alto detectado.	< 4 mg/dL	-4
	6-<8	2
	8-10	3
	>10	4
6. Análisis de líquido sinovial en una articulación sintomática o bursa	CUMS negativo	-2
7. Evidencia por imagen de depósitos de urato en alguna articulación o bursa sintomática. Ultrasonido: doble contorno o detección de depósito de uratos	Presente	4
8. Evidencia por imagen de daño articular relacionado a gota. Radiografías convencionales de manos y pies con al menos una erosión típica	Presente	4

Tabla 3. Definiciones y consideraciones de los criterios ACR/EULAR para diagnóstico de gota en la práctica clínica.

2.3.1 Etiología de la enfermedad

El factor etiológico más importante de la gota es la elevación crónica del AU plasmático, por encima de su punto de saturación (> 7 mg/dL), conocido como hiperuricemia ^(36, 37). La hiperuricemia y la gota parecen estar estrechamente relacionadas, no obstante, sólo entre el 10-20% de los pacientes hiperuricémicos desarrollan un ataque agudo de gota ⁽³⁸⁾.

Se han realizado numerosos estudios que advierten de la complejidad del fenotipo (hiperuricemia y gota), que responde a la interacción entre variantes de riesgo genéticamente heredadas y las exposiciones ambientales, que son yuxtapuestas con los dos principales mecanismos que conllevan a la hiperuricemia: la sobreproducción endógena, y la exógena (dieta) ^(39, 40).

2.3.2 Reabsorción y sub-excreción de AU

Como se mencionó anteriormente, la excreción renal de AU circulante representa una tercera parte de su eliminación total del cuerpo ⁽⁵⁾. Los transportadores de urato en riñón se dividen en dos categorías: transportadores de reabsorción de urato, incluyendo el transportador 1 de anión de urato (URAT1), transportador 4 de aniones orgánicos (OAT4) y transportador 9 de glucosa (GLUT9). Por otro lado, existen los transportadores de excreción de urato, incluyendo OAT1, OAT3, transportador de urato (UAT), proteína 4 de resistencia a múltiples fármacos (MRP4/ABCC4), ABCG2 y proteína de transporte de fosfato dependiente del sodio ⁽⁴¹⁾. Se ha observado que el defecto en los transportadores de AU, puede ser un factor patofisiológico que conduce a la hiperuricemia y la gota ⁽¹⁶⁾. Haciendo énfasis a lo mencionado anteriormente, algunas investigaciones señalan que la disfunción del transportador de urato (ABCG2) causa sub-excreción de este compuesto en riñón ⁽⁴²⁾. Rosa J Torres y colaboradores, encontraron que el diagnóstico de sub-excreción de AU se asoció positivamente con la presencia del alelo T de URAT1 *rs11231825*, el alelo G de GLUT9 *rs16890979*, y el alelo A de ABCG2 *rs2231142* ⁽⁴³⁾. En estudios previos de asociación genómica (GWAS), se detectaron cuatro *loci*

(ABCG2, SLC2A9, CUX2 y GCKR) que están asociados con la sub-excreción del AU renal ⁽⁴⁴⁾. Pese a la gran cantidad de estudios realizados sobre polimorfismos de un sólo nucleótido (SNPs), que buscan explicar el bagaje genético de la variabilidad observada de las concentraciones de AU en suero, estos podrían explicar sólo alrededor del 5-7.7% de la variación entre dichas concentraciones ⁽⁴⁵⁾. El GWAS publicado en 2013, combinó datos de más de 140,000 individuos de ascendencia europea e identificó 28 *loci* asociados con las concentraciones de urato en suero y de éstos 23 se han asociado con gota ⁽⁴⁵⁾.

Algunos estudios han estimado que la heredabilidad de los niveles de urato sérico es de entre 45% y el 73% ⁽³⁷⁾. Por otro lado, estudios como el de Taiwán en 2015, señalan una heredabilidad de gota del 35.1% en hombres y 17% en mujeres, que confirma la importancia de factores genéticos en la susceptibilidad de la enfermedad ⁽⁴⁶⁾.

2.3.4 Influencia de la dieta en gota

Se ha demostrado que una dieta con alto contenido en purinas aumenta el riesgo de gota. La evidencia más sólida que vincula la dieta con alto contenido en purinas con la gota proviene del Estudio de Seguimiento Profesional de la Salud (HPFS, por sus siglas en inglés) en los Estados Unidos, en donde se reclutaron 51,529 hombres de 40 a 75 años en 1986. En este se demostró que los mayores niveles de consumo de carne y mariscos, alimentos cuya concentración de purinas es muy elevada, están asociados con un mayor riesgo de gota ⁽¹⁴⁾.

Recientemente, se confirmó la asociación entre el consumo de alimentos con alto contenido en purinas como vísceras, fermentados (cerveza), y destilados de alcohol, con mayores niveles de AU en suero; y por consiguiente, están fuertemente asociados al desarrollo de gota ⁽⁴⁷⁾. Se encontró una relación dosis-respuesta entre el consumo de alcohol y el riesgo a padecer la enfermedad, que consistió en un riesgo relativo de 1.17 por cada 10g en el consumo diario de alcohol ⁽¹⁴⁾. Este riesgo varía sustancialmente según el tipo de bebida alcohólica, siendo los fermentados

los que confieren un riesgo mayor ⁽⁴⁸⁾. En contraste, existe evidencia de que el aumento de la ingesta de vitamina C, disminuye el riesgo de incidencia de gota hasta en 45% ⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾.

Además, en los últimos años, el consumo de fructosa se ha asociado con un mayor riesgo a desarrollar gota ⁽⁵²⁾. Cuando este monosacárido de fuente dietética es absorbido a través del transportador de fructosa GLUT5 dentro del epitelio intestinal y transportado al hígado, es rápidamente fosforilado por acción de la fructocinasa, produciendo la acumulación de fructosa-1-fosfato; esto deriva a un incremento simultáneo de AMP, que aumenta la tasa de degradación de las purinas generando AU ⁽⁵³⁾. En la figura 5 se muestra la atribución de la dieta en la gota.

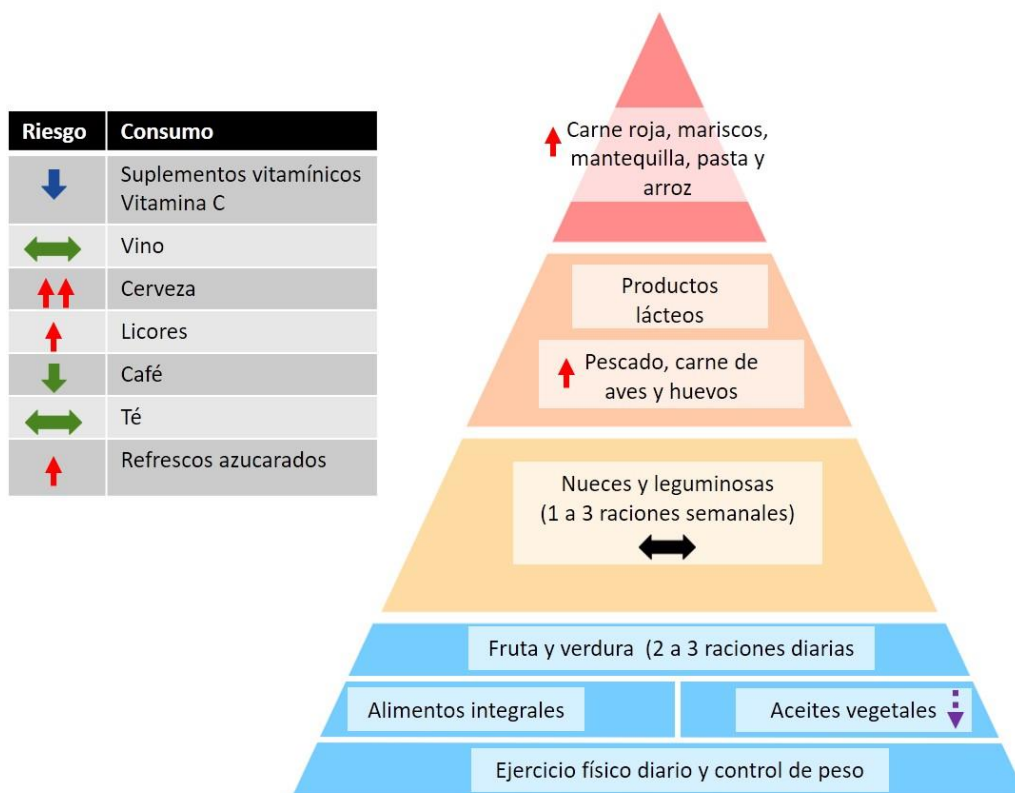


Figura 5. Influencia de la dieta en gota. Adaptado de Choi HK et al., 2005. Las flechas hacia arriba (rojo) indican aumento del riesgo de gota, las flechas hacia abajo (azul) disminución del riesgo, y las flechas horizontales (verde) señalan la ausencia de efecto sobre el riesgo. La línea discontinua (morado), indica potencial efecto, pero sin evidencia clara sobre el desarrollo de gota.

2.3.5 Hormonas uricosúricas

Se ha detectado mayor prevalencia de la enfermedad en varones que en mujeres premenopáusicas, no obstante, las mujeres posmenopáusicas son más susceptibles a padecer hiperuricemia y gota. El mecanismo biológico que se ha postulado como base de la relación entre la menopausia y los niveles de AU, es la presencia de los estrógenos. Estas hormonas poseen un efecto eficiente en la eliminación de AU, ya que suprimen la expresión del transportador de aniones orgánicos (OAT) en las células epiteliales de los túbulos proximales, promoviendo una mayor depuración de urato y menores niveles de AU en suero ^(54, 55).

2.3.6 Excreción intestinal de AU

Aunque el riñón ha sido reconocido como el principal regulador de los niveles de AU, es significativo resaltar la presencia de otros transportadores con alta afinidad a la molécula de urato expresados en el intestino; como MRP2, MRP4, GLUT9, MCT9, NPT4, NPT5, OAT10 y ABCG2 (BCRP) cuya función comienza a esclarecerse ⁽⁶⁾. Por ejemplo, en los últimos años se ha descubierto la aportación del transportador ABCG2 en la depuración extra renal de AU ⁽⁵⁶⁾.

Takada et al, sugirió que la disfunción de ABCG2 (*BCRP*), afecta la vía de excreción del AU a nivel intestinal. Detalló mediante un análisis funcional, que los ratones *Abcg2*-knockout tratados con oxonato (un inhibidor de uricasa), presentan niveles de AU significativamente más altos que en los ratones control ⁽⁵⁷⁾.

La contribución intestinal de la excreción de AU es una vía alternativa significativa que podría jugar un papel compensatorio ante procesos de hiperuricemia en insuficiencia renal crónica o disbiosis intestinal ⁽⁵⁸⁾. Incluso en algunos pacientes con insuficiencia renal, la eliminación de AU en intestino constituye el principal proceso de eliminación a pesar de que hoy en día se desconoce el mecanismo subyacente a este fenómeno ⁽⁵⁹⁾.

indispensables en la estructuración del metabolismo de nucleótidos y, por ende, participan en el metabolismo de purinas y del AU.

Es conocido que, en adultos, se alberga aproximadamente 100 billones de bacterias en el intestino, la mayoría de las cuales residen en el colon y superan en 10 veces el número de nuestras células somáticas y germinales ⁽⁶¹⁾. Se estima que este conjunto de bacterias intestinales poseen 9 millones de genes únicos comparados con los ~20 mil codificantes de un genoma humano ⁽⁶²⁾. Dichos genes proveen diversas capacidades metabólicas ausentes en el ser humano y, por lo tanto, pueden considerarse indispensable para la salud de la vida humana ⁽⁶³⁾. Por ejemplo, *B. thetaiotaomicron*, una de las bacterias anaeróbicas más abundantes en el intestino distal, incluye en su genoma 236 glucósido hidrolasas y 15 polisacárido liasas; enzimas faltantes en el proteoma humano y que son capaces de degradar la celulosa proveniente de la fibra dietética, polisacáridos de pared celular vegetal como (xilanos y pectinas), además de varios oligosacáridos y polisacáridos de almacenamiento como la inulina y almidones resistentes. Estos sustratos son degradados a través de un proceso anaeróbico fermentativo con la consecuente formación de ácidos grasos de cadena corta (AGCC); principalmente acetato, propionato y butirato ⁽⁶⁴⁾. En el ciego y el intestino grueso, el 95% de los AGCC producidos son rápidamente absorbidos por los colonocitos, mientras que el 5% restante es segregado en las heces ⁽⁶⁵⁾. Los AGCC se utilizan como fuente de energía y esto podría proveer casi el 10% de nuestras necesidades energéticas diarias ⁽⁶⁶⁾.

2.5 Microbioma intestinal y producción de vitaminas

Uno de los ejemplos más representativos sobre la síntesis vitamínica vinculada a bacterias colónicas, es la de la vitamina K, esencial en el proceso de coagulación sanguínea. Específicamente, *Enterobacter agglomerans*, *Serratia marcescens* y *Enterococcus faecium*, son bacterias que se han aislado en intestino neonatal humano, y se sabe participan en la producción natural de menaquinonas (vitamina

K2), que contribuyen de manera importante a satisfacer el requerimiento de vitamina K en el humano ⁽⁶⁷⁾.

La *Salmonella typhimurium*, *Desulfovibrio vulgaris*, *Pseudomonas denitrificans*, *Propionibacterium shermanii*, y *Bacillus megaterium* han sido implicados en la biosíntesis de cobalamina (vitamina B12) ⁽⁶⁸⁾. A pesar de que la vitamina B12 se obtiene exclusivamente a partir de algunos alimentos de origen animal, su síntesis *de novo* pareciera estar restringida únicamente a algunas bacterias en el intestino, debido a que los humanos no la sintetizan ⁽⁶⁹⁾. *Lactobacillus reuteri* es una bacteria hetero fermentativa del ácido láctico que coloniza el tracto gastrointestinal, y que contiene un grupo de genes funcionalmente activos responsables de la biosíntesis de vitamina B12 ⁽⁷⁰⁾. El humano requiere una cantidad mínima de cobalamina, aproximadamente 2-3 µg/día, para ayudar a las acciones de sólo dos enzimas: 1) metilmalonil-CoA mutasa, que participa en el catabolismo de ácidos grasos de cadena impar, algunos aminoácidos ramificados y colesterol, para generar el metabolito succinil-CoA y 2) metionina sintasa, que utiliza vitamina B12 como un cofactor, y se encarga de catalizar la transferencia de un grupo metilo del 5-metil-tetrahidrofolato a homocisteína, generando tetrahidrofolato y metionina ^(71, 72). Algunas especies bacterianas en intestino humano han desarrollado la capacidad de utilización de vitamina B para la formación de homocisteína y el nucleósido de adenosina ^(73, 74).

2.6 Microbioma intestinal y producción de aminoácidos

El microbioma intestinal también representa una amalgama de funciones que se encuentra provisto de una importante variedad de grupo de ortólogos (COGs) que participa no sólo en la biosíntesis de otras vitaminas como folato, tiamina y vitamina B6, sino también coadyuvan a la biosíntesis de aminoácidos esenciales tales como leucina, valina, lisina, treonina, triptófano, histidina y arginina; así como de otros aminoácidos no esenciales como alanina, aspartato, asparagina, glicina, glutamato y glutamina ⁽⁷⁵⁾. De hecho, la microbiota intestinal bacteriana podría sintetizar los 20 aminoácidos proteinogénicos, incluidos los nueve aminoácidos esenciales

necesarios para el crecimiento de los mamíferos. En general, las enzimas responsables de la biosíntesis de aminoácidos son fundamentales para el crecimiento y la supervivencia de las bacterias ⁽⁷⁶⁾.

Un análisis a gran escala de redes metabólicas y de secuencias de genomas bacterianos, demostró que más del 60% de las bacterias que viven en el intestino son auxótrofos para al menos uno de los aminoácidos, nucleósidos y vitaminas ^(77, 78).

A pesar de estos hallazgos y del conocimiento generado a partir de los genomas secuenciados de bacterias, poco se sabe sobre cómo sintetizan los aminoácidos. Numerosas publicaciones sustentan que las bacterias podrían sintetizar todos los aminoácidos, sin embargo, es importante señalar que en la secuencia genómica de muchas bacterias existen vacíos (gaps) de vías biosintéticas para esos 20 aminoácidos ⁽⁷⁹⁾. De hecho, aunque las bacterias aumentan su contenido de ADN a través de la transferencia horizontal y duplicación de genes, sus genomas siguen siendo pequeños y, en particular, carecen de secuencias no funcionales. Este patrón se puede explicar por un mayor número de deleciones que de inserciones, que conlleva a una reducción en el tamaño del genoma bacteriano. Así, cuando la selección natural no es lo suficientemente fuerte como para mantener la funcionalidad de genes encargados de sintetizar aminoácidos, estos se pierden en grandes deleciones o se inactivan ^(79, 80).

En consecuencia, cuando la bacteria se ve sin la posibilidad de biosintetizar un aminoácido, necesita tomar productos provenientes de medios mínimos (sin aminoácidos), o puede hacer uso de los sustratos o metabolitos excretados de otra cepa del mismo entorno y utilizarlos como fuente energética mediante alimentación cruzada (*cross-feeding*). Esto le permite garantizar su resiliencia para la adaptación a los estímulos ambientales, y buscar interacciones para suplir los vacíos de las rutas por las que las bacterias biosintetizan aminoácidos ^(78, 79). Un ejemplo claro de este fenómeno deriva de las investigaciones de Chiarra Ferrario y colaboradores, quienes realizaron un análisis transcripcional de *Bifidobacterium bifidum* cultivada

en un hidrolizado de caseína y proteína de suero de leche, y donde encontraron que las vías biosintéticas para la cisteína y la metionina son moduladas por la presencia de hidrolizado de caseína revelando una probable auxotrofia de la bacteria para cisteína ⁽⁸¹⁾. Adicionalmente, *Bacillus subtilis*, utiliza la vía de síntesis de cisteína a partir de sulfato. El azufre es un átomo crucial en la cisteína y la metionina, así como en varias coenzimas y cofactores como tiamina, biotina o coenzima A (CoA) ⁽⁸²⁾.

Por otro lado, Hengameh van der Kaaij y colaboradores, demostraron que *Lactobacillus johnsoni* es estrictamente auxotrófico para alanina. Mediante un análisis genético comparativo, revelaron que todos los genes conocidos involucrados en la biosíntesis de este aminoácido están ausentes en su genoma y depende de la enzima L-alanino deshidrogenasa que expresa de manera heteróloga *Bacillus subtilis* ⁽⁸³⁾.

Existe una estrecha relación entre el metabolismo de los aminoácidos y el de las bases de los nucleótidos. Los nucleótidos contienen una base de purina o de pirimidina (bases que contienen nitrógeno) ⁽⁸⁴⁾. Casi todos los átomos de ambos tipos de bases se derivan directa o indirectamente de los aminoácidos como se describió en la figura 2. Aunque los aminoácidos son precursores conocidos de purinas, el mecanismo molecular de la vía para el reciclaje directo de aminoácidos a partir de purinas permanece inexplorado ⁽⁸⁴⁾.

2.7 Metabolismo final de purinas y el catabolismo de los ureidos

En humanos y primates el AU es el producto final del metabolismo de purinas, sin embargo, en aves, reptiles y varios tipos de bacterias como las intestinales que poseen la enzima uricasa, se cataliza la conversión de AU en alantoína ⁽⁸⁵⁾.

El estudio de genomas de procariontes permitió conocer la vía de degradación completa del AU; no sólo hasta la formación de alantoína, sino también la ruta posterior, que comprende distintas enzimas que convierten a la alantoína en otros compuestos; como el glioxilato, glicina, urea, amonio y dióxido de carbono ⁽⁸⁵⁾. Dicho metabolismo, se ha encontrado en bacterias pertenecientes al género *Escherichia-*

3. ANTECEDENTES

Pocos estudios han relacionado la participación del microbioma intestinal en gota. En una investigación realizada por Angélica T. Vieira y colaboradores, se les introdujo CUMs a las articulaciones en rodillas de ratones libres de gérmenes. Los autores demostraron que la ausencia de microbiota intestinal en los roedores, reduce la producción de acetato, que es el AGCC mayormente distribuido a nivel sistémico. Dicha reducción, podría promover una inactivación del inflamasoma NLRP3 con la consecuente inhibición de la secreción de IL-1 β ; factores claves en la respuesta inmunitaria innata al interior de la articulación estimulada por los CUMs. Sorprendentemente, la recolonización de la microbiota intestinal mediante trasplante fecal y la administración de acetato, revirtieron la capacidad de respuesta hipoinflamatoria, induciendo la infiltración de neutrófilos en el tejido peri-articular y las cavidades sinoviales, y la liberación de mediadores inflamatorios (CXCL-1 y IL-1 β) ⁽⁸⁸⁾.

La primicia de la relación del microbioma intestinal y las concentraciones de AU, se descubrió en gemelos coreanos monocigóticos mediante un estudio que demostró un enriquecimiento de dos géneros bacterianos dominantes que corresponden a *Bacteroides* (enterotipo 1) y *Prevotella* (enterotipo 2) ⁽¹³⁾. En esta investigación fue notable la correlación existente entre mayores concentraciones séricas de AU con el género *Prevotella*, y menores que con el género *Bacteroides*. Además, en el enterotipo 1 se observó el enriquecimiento de la enzima 5-hidroxisourato hidrolasa (K07127), que participa en la conversión de AU a alantoína y se resaltó el probable papel de estas bacterias intestinales en las diferencias de las concentraciones de AU sérico ⁽¹³⁾.

En 2016, se desarrolló un estudio de casos y controles en población China, que comparó la microbiota intestinal entre enfermos con gota contra individuos sin la enfermedad. En este estudio se utilizó una estrategia de metagenómica para evaluar el papel del microbioma intestinal en la enfermedad. Se analizó a 33 personas sin la enfermedad (grupo control) y 35 enfermos de gota. Se evidenció que existen estructuras y funciones bacterianas de distinta índole entre los dos

grupos estudiados, que se caracterizó por una mayor presencia de *Bacteroides caccae* y *Bacteroides xylanisolvens* en sujetos con la enfermedad, así como una subrepresentación de bacterias como *Faecalibacterium prausnitzii* y *Bifidobacterium pseudocatenulatum*. Asimismo, en el grupo de pacientes con gota, se encontraron alteraciones en el catálogo de genes que participan en la biosíntesis de ácido butírico y degradación de purinas, conjuntamente con un perfil de microbiota intestinal caracterizado por un aumento de la actividad de la xantina deshidrogenasa ⁽¹²⁾. En otro estudio que combinó las estrategias de 16S rRNA y metabolómica; se comparó un conjunto de 26 muestras de heces de individuos sin gota contra 26 de pacientes con la enfermedad. En pacientes con gota se comprobó disbiosis intestinal y la presencia exacerbada de patógenos oportunistas tales como *Bacteroides*, *Porphyromonadaceae*, *Rhodococcus*, *Erysipelatoclostridium* y *Anaerolineaceae*. En comparación con los individuos sin la enfermedad, los pacientes con gota poseían un enriquecimiento en las concentraciones de metabolitos que incluyó a la glicina, alanina y taurina. Este incremento, puede representar una mayor disponibilidad de sustratos para la formación de purinas. Por el contrario, las concentraciones de glucosa, asparagina, aspartato, citrulina, fenilalanina, y valina fueron significativamente más bajas ⁽¹¹⁾. La depleción de estos metabolitos, podrían estar implicados en 3 mecanismos: la disminución de adenosín trifosfato en el intestino con una respectiva inhibición de transportadores intestinales para la excreción de AU, una desregulación en la liberación de interleucinas pro-inflamatorias, y, una alteración en los mecanismos de protección de la barrera intestinal.

Estudios experimentales recientes, demostraron que los probióticos *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus brevis* DM9218 poseen capacidad uricolítica, al reducir los niveles de AU en ratas hiperuricémicas ^(89, 90). Estas investigaciones en modelos animales ponen en manifiesto el probable potencial del uso de algunos probióticos como terapéuticos contra la hiperuricemia y procesos de disbiosis intestinal. No obstante, se requieren estudios en diversas poblaciones para entender los mecanismos funcionales de las bacterias que habitan en el intestino humano en pacientes con gota.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Para mantener un estado de normouricemia, el humano excreta el 60-70% del AU por vía renal. Por otro lado, algunas bacterias uricosúricas que forman parte de la microbiota intestinal eliminan un tercio del total de AU (30-40%). Los trabajos ya mencionados, ponen de manifiesto la importancia del microbioma intestinal en el mantenimiento de los niveles de AU; sin embargo, los resultados no son concluyentes ya que en estos estudios los linajes bacterianos asociados a gota, así como los genes y vías metabólicas responsables de la síntesis y degradación de AU difieren unos con otros.

Dada la heterogeneidad clínica de la artritis gotosa consideramos que la estratificación clínica de los pacientes con gota según los criterios diagnósticos de la ACR/EULAR, permitirá conocer no únicamente la descripción robusta de la microbiota intestinal y sus características funcionales en pacientes con gota no tofácea en sujetos con menor tiempo de evolución y gravedad de este tipo de artritis, sino que también, se describirán las probables afectaciones de la composición de dicha microbiota considerando un estadio crónico de la enfermedad que implica la manifestación de tofos subcutáneos

Por lo anterior, nos hemos propuesto responder la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la estructura y las funciones de la microbiota intestinal en pacientes con gota en diferentes estadios de la enfermedad (con y sin tofos), comparada con la de individuos sin la enfermedad?.

5. JUSTIFICACIÓN

La gota es la artropatía inflamatoria más frecuente en varones en edad productiva, y actualmente, México como país emergente posee una alta prevalencia de la enfermedad. La explicación de la gota se ha limitado a la contribución del consumo excesivo de purinas y factores genéticos. Diversos estudios se han enfocado únicamente a la asociación de variantes genéticas que involucran la evaluación de mutaciones de un sólo nucleótido en el conjunto de transportadores de AU a nivel renal, pero que sólo explican del 5-7.7% de la variabilidad observada en las concentraciones séricas de AU. Estudios en población mexicana señalan que las altas prevalencias de hiperuricemia en su población, estarían relacionadas con factores como el IMC, índice de adiposidad visceral y la etnicidad. Esta última característica haría particularmente susceptible a la población mexicana al desarrollo de hiperuricemia comparado con otras poblaciones en el mundo. Sin embargo, se sabe que únicamente el 10% de hiperuricémicos asintomáticos manifestará una progresión al estadio de ataque agudo de gota. Asimismo, se ha demostrado que la severidad de la artritis gotosa en México, podría estar relacionada con otros factores como los bajos niveles socioeconómicos, retraso en la atención médica, autoprescripción frecuente y otros factores ambientales como la dieta. Si bien numerosas esas investigaciones tratan de explicar la etiología y patogénesis de la hiperuricemia y su asociación con la gota, aún quedan brechas clave en el conocimiento de la enfermedad. Por ejemplo; estudios pioneros recientes desarrollados en poblaciones asiáticas, señalan cambios en la taxonomía bacteriana y alteraciones funcionales tanto de los sustratos metabólicos requeridos para la generación y/o eliminación de AU dentro del microbioma intestinal. Por lo que se ha postulado que la estructura de la microbiota bacteriana residente en intestino humano puede ser un factor influyente que considerar en la génesis y progresión de gota. No obstante, no existe algún estudio con esas asociaciones en poblaciones latinoamericanas, por lo que es necesario realizar estudios en nuestro país para evaluar esta hipótesis.

En este trabajo se pretende demostrar las posibles variaciones taxonómicas y funcionales del microbioma intestinal, específicamente; aquellas relacionadas a las vías metabólicas intermediarias implicadas en la síntesis y degradación del AU, que pueden ser escrutadas mediante estudios *in silico* de predicción funcional a partir del gen bacteriano ribosomal 16S.

6. HIPÓTESIS

La estructura y el perfil funcional de la microbiota intestinal vinculado a las vías de síntesis y/o degradación de ácido úrico se encuentran aumentados en pacientes con artritis gotosa con y sin tofos.

7. OBJETIVOS

7.1. Objetivo general

Evaluar estructural y funcionalmente la microbiota intestinal vinculada al metabolismo del AU en pacientes con artritis gotosa con y sin tofos.

7.1.1 Objetivos específicos

- Caracterizar la diversidad y abundancia de las ASVs de la microbiota intestinal en las poblaciones de estudio, a partir de la secuenciación masiva del gen ribosomal 16S RNA.
- Identificar un microbioma común y compartido de los ASVs que se encuentren sobrerrepresentados en los grupos de gota.
- Realizar perfiles de predicción metagenómica funcional mediante herramientas bioinformáticas a partir del 16S.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1. Tipo de estudio

Estudio descriptivo, observacional analítico de casos y controles. El esquema general de trabajo que se llevó a cabo en este estudio se muestra en la (Figura 8).

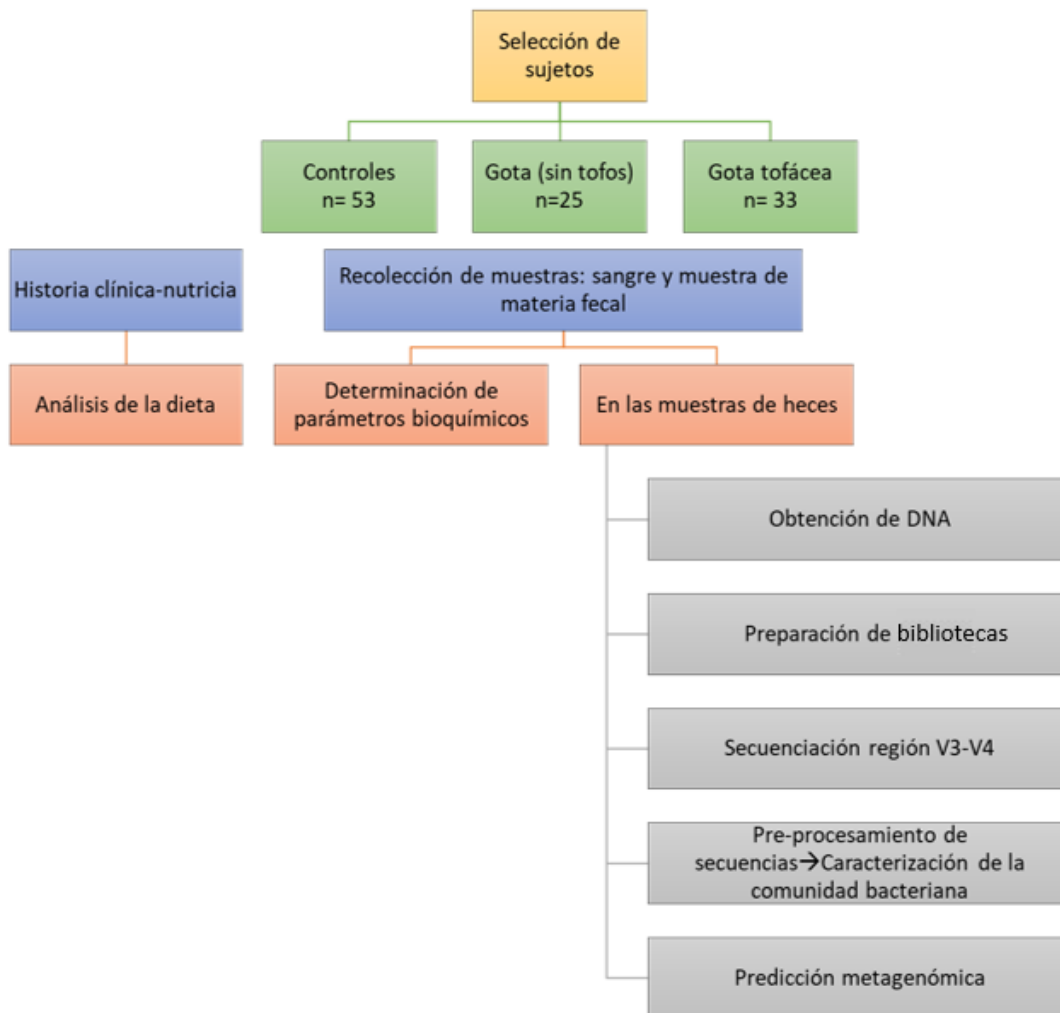


Figura 8. Diagrama de flujo

8.2 Descripción del universo de trabajo

Se seleccionó un total de tres grupos para el estudio que provenían del Instituto Nacional de Rehabilitación y del Hospital General de México. Cada participante firmó una carta de consentimiento informado y se llevó a cabo la recolección de las muestras de heces para procesamiento del material genético bacteriano. Este protocolo fue aprobado por el comité de ética del Instituto Nacional de Rehabilitación con el número de registro: 273023.

8.3 Criterios de selección

8.3.1 Criterios de inclusión

- **Grupo 1** (grupo control) proveniente del Banco de Sangre del instituto Nacional de Rehabilitación.
 - a) Hombres de entre 30 y 60 años con concentraciones de ácido úrico <7 mg/dL.
 - b) Mujeres mayores de 50 años, con concentraciones de ácido úrico <7 mg/dL.
- **Grupo 2**, grupo gota (sin tofos).
 - a) Hombres o mujeres a los que se les demostró la presencia de CUMs en líquido sinovial por microscopía de luz polarizada.
 - b) Diagnosticados con un puntaje >8 según los criterios diagnósticos de Colegio Americano de Reumatología ACR/EULAR.
 - c) Ausencia de tofos mono u oligoarticulares.
- **Grupo 3** (grupo con gota tofácea)
 - a) Hombres o mujeres a los que se les demostró la presencia de CUMs en líquido sinovial por microscopía de luz polarizada.
 - b) Diagnosticados con un puntaje >8 según los criterios diagnósticos de Colegio Americano de Reumatología ACR/EULAR.
 - c) Presencia de tofos mono u oligoarticulares (≥ 1 tofo).

8.3.2 Criterios de exclusión.

Los individuos con diagnóstico de diabetes, insuficiencia renal crónica, otras enfermedades reumáticas incluyendo otras artropatías cristalinas (diferentes a los cristales de CUM), síndrome de Cushing y enfermedades gastrointestinales crónicas fueron excluidos para este estudio. Además, no se incluyeron en el estudio los pacientes que recibían antibióticos o terapia antiparasitaria, intolerancia a la colchicina y/o diarrea en los últimos tres meses.

8.3.3 Criterios de eliminación.

- Muestras de heces que durante la recolección tuvieron contacto directo con orina y/o agua del excusado.
- Muestras con bajo contenido de DNA
- Muestras no amplificadas

8.4 Aplicación de cuestionario

El grupo de participantes se reclutó por personal previamente entrenado del laboratorio de líquido sinovial del Instituto Nacional de Rehabilitación para la obtención de datos sociodemográficos, clínicos, antropométricos y dietéticos.

8.5 Análisis bioquímicos sanguíneos

Se recolectó un total de 10 ml de muestra sanguínea por participante, después de un ayuno de 12 horas mediante una punción intravenosa de vena cubital. La glucosa se determinó por el método de glucosa oxidasa. Se evaluaron los niveles en suero de ácido úrico, colesterol y triacilglicéridos, usando métodos estandarizados y siguiendo las instrucciones del fabricante (DiaSys, Holzheim Alemania). También se realizó la evaluación de parámetros antropométricos para calcular el índice de masa corporal (IMC).

8.6 Análisis de la dieta

Se aplicó un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos semicuantitativo (CFA-SC). Se elaboró con base en un cuestionario publicado por Trinidad Rodríguez y colaboradores ⁽⁹¹⁾. El cuestionario fue previamente validado y constó de 59 alimentos pertenecientes a todos los grupos de alimentos (Anexos). A los participantes se les preguntó en el último año por las frecuencias de consumo de alimentos categorizadas entre cero y siete veces a la semana. Las porciones de los alimentos y su agrupación fueron basadas en las tablas mexicanas de composición de alimentos ^(92, 93)

8.7 Procesamiento de heces

Cada participante obtuvo la primera muestra de heces emitida por la mañana en condiciones de esterilidad en frascos de polipropileno. La materia fecal fue inmediatamente separada en alícuotas de 200 mg, y se almacenó a – 80 °C hasta su posterior análisis.

8.8 Extracción de DNA bacteriano de heces

Se extrajo material genético (DNA bacteriano), de una alícuota de 200 mg de heces mediante el kit QIAamp stool de Qiagen. Se añadió a la muestra de heces 500 µL de buffer ASL para lisis. Posteriormente se calentó 10 minutos a 70 °C y se agregó una tableta Inhibitex. Se llevó a cabo una centrifugación a 14 000rpm durante 1 minuto y se obtuvo 200 µL del sobrenadante, posteriormente se añadió 15 µL de proteinasa K, más 200 µL de tampón AL al sobrenadante. Después se calentó 30 minutos a 70 °C. Se agregó 200 µL de etanol, y se transportó la mezcla a la columna de centrifugación. Los pasos finales incluyeron lavados con tampones AW1 y AW2, y por último se realizó una elución en 50 µL de buffer AE y se almacenó a - 20 °C.

8.9 Cuantificación de DNA

El DNA bacteriano se cuantificó por espectrofotometría y fluorescencia por medio del software “Nanodrop V3.9.1” y el flourometro Qubit. Se procedió a la selección de

muestras con un índice 260/280 de absorbancia mínima de 1.9 y una concentración mínima de 5 ng/ul para su posterior introducción al equipo de secuenciación.

8.9.1 Amplificación por PCR del gen ribosomal ARNr 16S

Se realizó un protocolo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de dos pasos. El primero fue diseñado para amplificar la región V3-V4 del gen del ARNr de la bacteria 16S con cebadores universales (347F y 803R) usando los siguientes pasos: 95°C durante 3 min, 40 ciclos (95°C durante 30 segundos, 55°C durante 30 segundos, 72°C durante 30 segundos); durante 72°C durante 5 minutos; 4°C ∞. Los productos de la PCR se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa (2%). El segundo procedimiento de PCR se empleó para incorporar adaptadores y una secuencia de código de barras específica para cada muestra a través del kit Nextera XT Index (Illumina, CA, Estados Unidos-EE.UU). Las secuencias de los primers utilizados, se presentan en la tabla 4. Asimismo, se incorporó adaptadores de Illumina cuya secuencia se muestra en la tabla 5. Los productos de PCR se purificaron mediante el kit de purificación de PCR QIAquick (QIAGEN, Hilden, Alemania); se cuantificaron y validaron en el sistema Agilent 4200 (Agilent, Santa Clara, CA, Estados Unidos). Las bibliotecas finales se agruparon en una concentración de 4 pM con la adición de un 10% de control PhiX en el pool final, y, posteriormente, se prepararon para su secuenciación utilizando la plataforma Illumina Miseq (Illumina, San Diego, CA, Estados Unidos) con una longitud de lectura de 2 x 300 bp siguiendo las especificaciones del fabricante.

GEN	SECUENCIA DE LOS PRIMERS DE REGIÓN V3-V4
ARNr 16S	319F (5' ACTCCTACGGGAGGCAGCAG – 3') 806R (5' –GGACTACHVGGGTWTCTAAT- 3')

Tabla 4. Primers específicos de las regiones hipervariables V3-V4 del gen ribosomal ARNr 16S. Referencia: Fadrosch DW, Ma B, Gajer P, Sengamalay N, Ott S, Brotman RM, Ravel J Microbiome. 2014 Feb 24; 2(1):6.

SECUENCIA DE LOS ADAPTADORES DE ILLUMINA
(primer Forward 5') TCGTCCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG (Primer Reverse 5') GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC)

Tabla 5. Adaptadores de illumina

9. Análisis estadístico y bioinformático.

Las lecturas en crudo de la secuenciación fueron recortadas y la calidad filtrada empleando la herramienta fastp ⁽⁹⁴⁾. Las secuencias se concatenaron con la herramienta PEAR v0.9.10 ⁽⁹⁵⁾. Posteriormente, las secuencias fueron importadas a QIIME2 (Quantitative Insight Into Microbial Ecology 2) version 2019.4 ⁽⁹⁶⁾. Las lecturas se procesaron y se eliminaron las quimeras y se les aplicó un algoritmo de Deblur ⁽⁹⁷⁾ para remover secuencias inespecíficas inherentes a las PCR y a la secuenciación.

La asignación de la taxonomía se realizó contra la base de datos de referencia ribosómica SILVA v132, agrupada con una similitud de secuencia del 99% ⁽⁹⁸⁾. La tabla de abundancia de ASVs, los metadatos y las tablas de taxonomía resultantes se importaron en el paquete R phyloseq, y se analizaron a través de RStudio versión 3.5.2 (<http://www.rstudio.com>)⁽⁹⁹⁾. Las métricas de diversidad alfa para la riqueza (especies observadas, Chao1, ACE) y la diversidad (Shannon y Simpson) fueron estimadas y comparadas usando las funciones de riqueza_estimada, riqueza_trazada, y prueba de pares de Wilcoxon implementadas en phyloseq. También se utilizó la librería R plotly para resumir y visualizar los índices de diversidad alfa. Se empleó la normalización logarítmica de la mediana utilizando amp_boxplot (dentro del paquete ampvis2 v.2.5.9) para calcular la abundancia relativa de lectura de los ASV ⁽¹⁰⁰⁾. Para el análisis y la visualización de la abundancia relativa taxonómica, se aplicó en primera instancia la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para determinar significancia estadística entre los tres grupos. Sólo si la prueba de Kruskal-Wallis mostraba una $p < 0.05$, se realizó la prueba de suma de Wilcoxon para la comparación entre pares de grupos; (gota vs. control), (gota tofácea vs. control) y (gota vs. gota tofácea). Además, para los resultados significativos obtenidos por la prueba de Wilcoxon, también se calculó los cambios de magnitud dividiendo los valores de las abundancias de las medianas de los grupos comparados.

Se realizó un análisis discriminante lineal (LDA) con el paquete MASS en R para comprobar si las abundancias de taxones detectadas en las pruebas no

paramétricas y los cambios de magnitud eran capaces de discriminar entre los grupos.

Basándonos en un parámetro de cociente de abundancia de 0,8, y una eliminación de ASVs con una abundancia $<0.01\%$ del recuento total taxonómico, se generó un diagrama de Venn, y gráficos de Krona para conocer ASVs únicas y comunes entre los grupos de gota.

Para obtener una comprensión más profunda de cómo las especies bacterianas compartidas detectadas en los grupos de gota podrían jugar un papel en el metabolismo de las purinas, exploramos un enfoque *in silico* para inferir redes de interacción proteína-proteína bacteriana (PPI) basadas en la tasa de descubrimiento falso (FDR) para anotaciones específicas, usando la versión 11.0 de STRING-DB (<https://string-db.org>). Se consideró la significancia estadística con valores de p inferiores a 0.05.

Se predijo los perfiles funcionales bacterianos a partir de datos derivados del 16S, utilizando el paquete Tax4Fun2 R (<https://sourceforge.net/projects/tax4fun2/>), con un conjunto de base de datos provenientes del (Ref100NR) ⁽¹⁰¹⁾. Finalmente, se investigó más a fondo las predicciones metagenómicas funciones y esquemas de clasificación enzimática a diferentes niveles jerárquicos mediante la Enciclopedia de Genes y Genomas de Kyoto (KEGG) generada.

Se aplicó una prueba t de Welch de varianzas desiguales para establecer diferencias estadísticas y determinar posibles funciones bacterianas enriquecidas entre los grupos mediante a herramienta en STAMP (Statistical Analysis of Metagenomic Profiles) ⁽¹⁰²⁾.

10.RESULTADOS

10.1 Análisis de variables bioquímicas y antropométricas

Se analizó a un total de 58 pacientes con gota. Treinta y tres sujetos tenían una media en edad de entre 51.3 ± 13.8 años, presencia de tofos y más de ≥ 8 años de padecer la enfermedad. El grupo de los pacientes con gota sin tofos fue más joven (50.76 ± 9.42 años), y a pesar de que poseía menos tiempo de evolución de la enfermedad comparado con los pacientes con tofos, no se presentó una diferencia estadísticamente significativa. Las características antropométricas denotan significancia estadística entre el grupo de gota sin tofos comparado con el control; mientras que, en los parámetros bioquímicos, se encontró diferencias en las variables triacilglicéridos y glucosa. En ambos analitos el grupo control obtuvo menores concentraciones respecto a los grupos con gota (Tabla 6). El tratamiento de primera línea para todos los pacientes con gota incluyó alopurinol (inhibidor de xantina oxidasa) y colchicina.

	Control	Gota (sin tofos)	Gota tofácea	Valor-P
N	53	25	33	
Edad (años)	45.4 (± 7.9)	50.7 (± 9.4)	51.3 (± 13.8)*	0.02^a
IMC (Kg/m ²)	26.0 (± 2.7)	30.2 (± 3.4)*	27.9 (± 5.1)	<0.01^a
Glucosa (mg/dL)	89.8 (17.9)	97 (13.5)^{&}	92.5 (10.6)	0.02^b
Colesterol total (mg/dL)	151.7 (± 41.8)	164.4 (± 30.0)	169.3 (± 33.2)	0.09 ^a
Triacilglicéridos (mg/dL)	127.3 (51.4)	181 (115.6)^{&}	179.8 (110.3)^{&}	<0.01^b
Ácido úrico (mg/dL)	5.6 (1.2)	6 (2.05)	6.6 (3.9)	0.06 ^b
Tiempo de diagnóstico (años)	---	6.5 (10)	8 (15)	0.63 ^d
Género (%)				
Hombre	46 (86.7)	24 (96.00)	33 (100.00)	0.061 ^e
Mujer	7 (13.2)	1 (4.00)	0 (0.00)	
Tto alopurinol/Dosis diaria 300-600 mg. n (%)	NA	25 (100)	33 (100)	-
Tto Colchicina/ Dosis diaria 0.5-1 mg. n (%)	NA	25 (100)	33 (100)	-

Tabla 6. Estadísticos y resultados de las variables antropométricas y bioquímicas en grupos de gota y controles. El texto en negrita denota la significancia estadística. La edad, el IMC y el colesterol total se expresan en media y desviación estándar, mientras que las otras variables continuas se resumen por la mediana y el rango intercuartil. a. Valor P obtenido del ANOVA. b. Valor P obtenido de la prueba de Kruskal-Wallis. c. Valor P obtenido de la prueba de la T de Student de dos colas. d. Valor P obtenido de la prueba de la U de Mann-Whitney.

10.2 Análisis de dieta (kilocalorías y macronutrientos)

El consumo medio de energía en todos los grupos fue de 1,205 kcal (95% CI 1,131, 1,280). El grupo control demostró un consumo significativamente mayor (media: 1,359 kcal, 95% CI 1,271, 1,445) en comparación con el grupo de gota tofácea y gota no tofácea (valor de $P= 0.001$, 0.009 , respectivamente). El mismo patrón se observó en el consumo de proteínas (control=73 g, vs. gota tofácea=52 g ($P= 0.009$), vs. gota= 56 g ($P= 0.040$)), lípidos (control= 56 g vs. gota tofácea =37 g ($P= 0.001$), vs. gota=39 g ($P= 0.003$)), e hidratos de carbono (control=183 g vs. gota tofácea= 142 g ($P=0.002$), vs gota=144 g ($P= 0.009$)).

		N	Media	DE	Error est.	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inf.	Límite sup.		
Kilocalorías en 24 h	Control	52	1358	312.0	43.2	1271.7	1445.5	636.6	1970.1
	Gota tofácea	28	1010	369.0	69.7	867.7	1153.9	336.1	2104.7
	Gota	21	1088	395.6	86.3	908.0	1268.2	627.5	1795.8
	Total	101	1205	378.7	37.6	1131.1	1280.7	336.1	2104.7
Proteína en 24 h	Control	52	73.3	30.9	4.2	64.6	81.9	25.8	163.0
	Gota tofácea	28	52.6	30.9	5.8	40.5	64.6	11.4	124.6
	Gota	21	56.9	38.3	8.3	39.4	74.3	19.5	162.0
	Total	101	64.1	33.6	3.3	57.5	70.8	11.4	163.0
Lípidos en 24 h	Control	52	56.3	17.1	2.3	51.5	61.0	19.7	89.8
	Gota tofácea	28	37.4	18.0	3.4	30.4	44.3	5.2	90.3
	Gota	21	39.7	19.5	4.2	30.8	48.5	8.8	89.1
	Total	101	47.6	19.8	1.9	43.6	51.5	5.2	90.3
Hidratos de carbono en 24 h	Control	52	183.1	44.4	6.1	170.7	195.5	77.5	301.2
	Gota tofácea	28	142.9	51.3	9.7	122.9	162.8	48.7	277.7
	Gota	21	146.4	60.2	13.1	119.0	173.9	69.9	266.9
	Total	101	164.3	53.1	5.2	153.8	174.8	48.7	301.2

Tabla 7. Análisis descriptivo del consumo de kilocalorías y macronutrientos en 24 horas por grupo de estudio. Para las comparativas entre grupos se realizó ANOVA de 1 factor cuando se asumió el supuesto de normalidad y Kruskal-Wallis cuando no se asumió el supuesto de normalidad. Las diferencias significativas se establecieron usando las pruebas *pos-hoc* de Bonferroni.

10.3 Diversidad alfa de las comunidades bacterianas en el microbioma intestinal de los grupos de estudio

La secuenciación del gen bacteriano 16s ARNr resultó en 3,444,321 lecturas libres de error que cumplieron los estándares de calidad. De las 110 muestras secuenciadas, se obtuvo una media de 31,599 lecturas por muestra.

Se determinó el valor de algunos índices de riqueza y diversidad, y se comparó entre grupos descartando IMC >30 (cinco muestras del grupo de gota y tres del grupo de gota tofácea). Los parámetros de riqueza Chao1, las especies observadas y el ACE fueron estadísticamente significativos, con valores mayores en el grupo control en comparación con el grupo de gota sin tofos (valor $p = 0.042$) (valor $p = 0.039$) (valor $p = 0.038$), respectivamente (Figura 9). Sin embargo, no se encontró ninguna diferencia estadística en los índices de diversidad Shannon. Por otro lado, a pesar de mostrar una tendencia de incremento, los pacientes de gota tofácea no presentan variaciones estadísticas en ninguno de los parámetros de α diversidad.

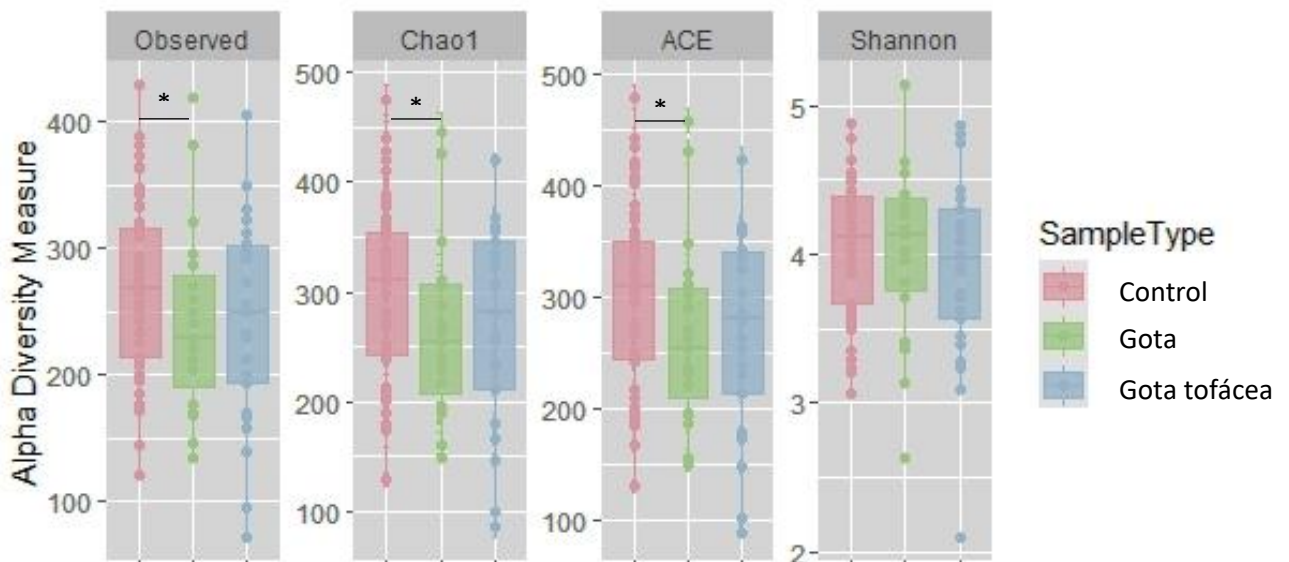


Figura 9. Diversidad alfa de comunidades bacterianas en el microbioma de los grupos de estudio. Variaciones de los índices de riqueza (Observed, Chao1, ACE) y de diversidad (Shannon) entre los grupos de gota y los controles. Diferencias consideradas significativas marcadas con * representan una $p < 0.05$.

10.4 Abundancias de las variantes de secuencias de amplicón (ASVs) a nivel de filo

Se asignaron secuencias a 5349 variantes de secuencias de amplicones (ASV) en $\geq 99\%$ de similitud agrupadas en diferentes categorías taxonómicas divididas en 5 filos, 9 clases, 11 órdenes, 21 familias y 63 géneros. A nivel de filo, encontramos que las *Proteobacteria* fue significativamente más abundantes en los pacientes con gota tofácea en comparación con los controles (valor $p < 0.05$) (Figura 10).

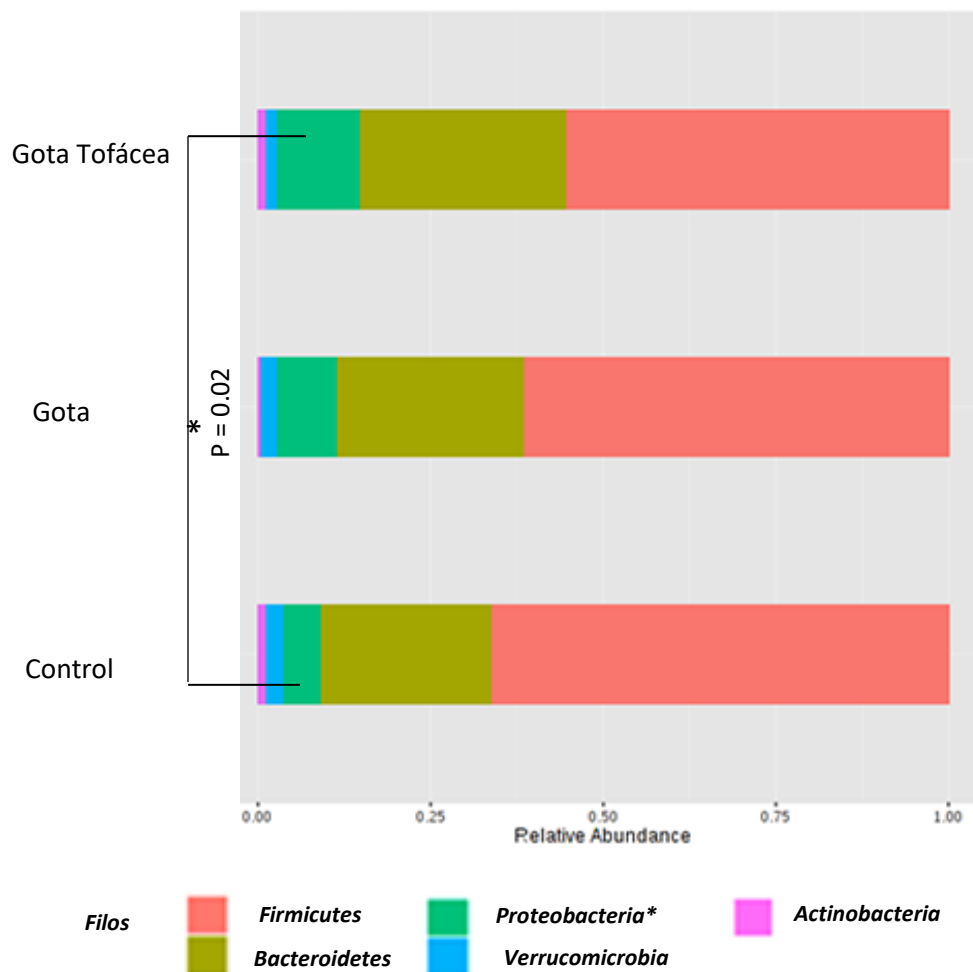


Figura 10. Abundancia relativa de los ASVs a nivel de filo. Las gráficas de barras apiladas representan la abundancia relativa de cada filo detectada por la base de datos SILVA 132. Color rojo (Firmicutes), Color verde turquesa (*Proteobacteria**), Color rosa (*Actinobacteria*), Color Verde (*Bacteroides*), Color azul (*Verrucomicrobia*). * $p < 0.05$ comparativo control vs Gota tofácea (filo: *Proteobacteria*).

10.5 Abundancias de las variantes de secuencias de amplicón (ASVs) a nivel de género

En general, la abundancia relativa de 35 géneros comparables entre grupos más abundantes observados en todas las muestras se indica en la figura 11. Diez de los géneros pertenecen al filo *Bacteroidetes*, 22 géneros se encuentran agrupados en el filo *Firmicutes*. El filo *Proteobacteria* únicamente contó dos géneros (*Escherichia-Shigella* y *Suterella*), y *Verrucomicrobia* (*Akkermansia*).

Cuando se analizó la estadística a nivel de género, se encontró que nueve géneros principales eran significativamente diferentes ($p < 0.05$) en abundancia entre los grupos de estudio: *Escherichia-Shigella*, *Ruminococcaceae_UCG_013*, *Akkermansia*, *Oscillibacter*, *Bifidobacterium*, *Phascolarctobacterium*, *Ruminococcus_gnavus_group*, *Lachnospiraceae_ND3007_group*, y *Butyricoccus*.

Después de conocer los géneros que entre grupos diferían estadísticamente, se realizó una prueba de comparaciones por pares, para establecer entre qué grupos se estableció dicha diferencia. Además, se llevó a cabo la evaluación del cambio de magnitud (fold-change), para demostrar cuál fue el cambio en proporción de los géneros evaluados. Los resultados muestran que los géneros *Phascolarctobacterium* y *Bacteroides*, fueron 14 veces ($p = 0.008$) y 2.5 veces ($p = 0.031$) más abundantes respectivamente en el grupo de gota sin tofos que en los controles. En esta misma comparativa de grupos se observó que *Akkermansia* y el grupo *Ruminococcus_gnavus_* fueron ~2.5 veces y ~1.5 veces más abundantes en el grupo de gota respecto al control con valores ($p = 0.007$) y ($p = 0.012$), correspondientemente. En individuos del grupo control, se encontró que la abundancia de *Bifidobacterium*, *Butyricoccus*, *Oscillobacter*, *Ruminococcaceae_UCG_010*, *Lachnospiraceae_ND2007_group*, y *Haemophilus* fue ~1.5 veces más enriquecido con valores de $p < 0.05$; así como *Ruminococcus_1* y *Clostridium_sensu_stricto_1*, que asumieron más de 4 veces ($p = 0.031$) y 3 veces ($p = 0.028$) mayor abundancia comparado con el grupo con gota (Figura 12).

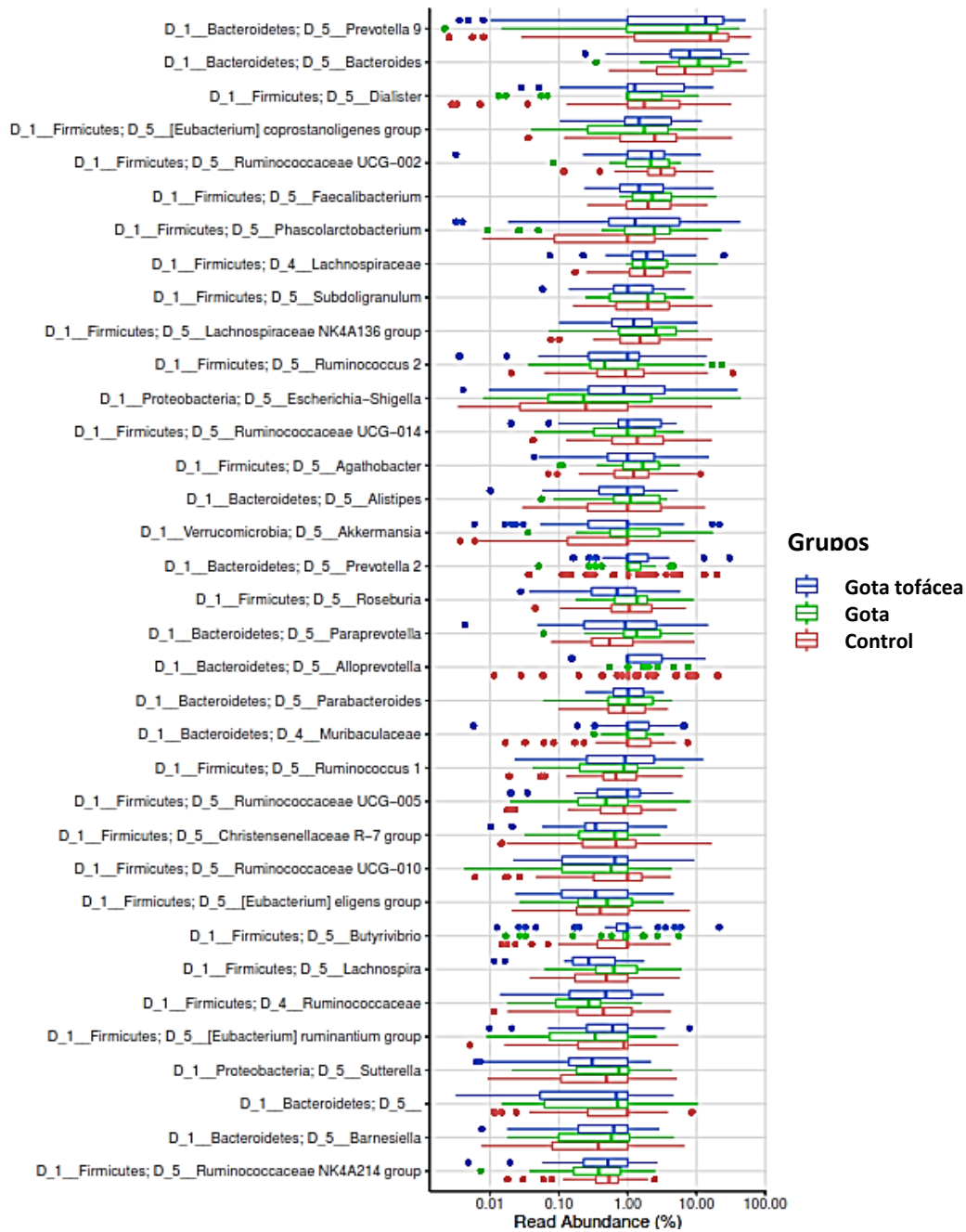


Figura 11. Abundancia relativa de los ASVs de 35 géneros comparables entre pacientes con gota y controles detectado por la base de datos SILVA 132. Color rojo (grupo control), Color verde (grupo gota), Color azul (grupo gota no tofácea).

Escherichia-Shigella fue un género que evidenció un enriquecimiento estadísticamente significativo en la gota tofácea en comparación con el grupo control (aumento de 10 veces ($p=0.003$)). En esa misma comparación, el grupo de gota tofácea demostró un aumento de ~1.5 veces en los géneros *Sarcina* ($p=0.048$), *Rikenellaceae_RC9* ($p=0.05$) y *Lachnospiraceae_NK4B4* ($p=0.033$) respecto al grupo control; mientras que la *Ruminococcaceae_UGC_013* fue ~2.5 veces menos abundante que en los controles ($p=0.005$).

Finalmente, cuando se comparó el grupo de gota versus gota tofácea, se encontró un enriquecimiento de *Akkermansia* ($p=0.045$), *Roseburia* ($p=0.029$), con un cambio de ~1.5 veces mayor abundancia para ambos géneros. En el grupo de gota también se observó una abundancia ~2.5 veces mayor de *Ruminococcaceae_UGC_013* ($p=0.027$), *Erysipelotrichaceae_UCG_003* ($p=0.045$), y *Lachnospira* ($p=0.021$) respecto al grupo de gota tofácea. Mientras que el único género sobrerrepresentado en el grupo de gota tofácea fue *Lachnospiraceae_ND3007* aumento ~1.5 veces ($p=0.019$) (Figura 12).

El análisis discriminante lineal demostró que *Ruminococcus_1*, *Clostridium_sensu_stricto_1*, *Oscillibacter*, *Butyricoccus*, *Ruminococcaceae_UGC_010*, *Bifidobacterium*, *Lachnospiraceae_ND3007_group*, *Haemophilus* y *Ruminococcaceae_UGC_013*, fueron los géneros detectados en las pruebas no paramétricas y en los cambios de magnitud, que discriminaron entre el grupo control y los dos grupos de gota. Por otro lado, *Phascolarctobacterium*, *Bacteroides*, *Lachnospira*, *Erysipelotrichaceae_UCG_003*, *Ruminococcaceae_UGC_013*, *Roseburia*, *Akkermansia*, y *Ruminococcus_gnavus_group*, tienen la capacidad de discriminar entre el grupo de gota, de los controles y el grupo de gota tofácea. En tanto que, *Escherichia-Shigella*, *Sarcina*, *Rikenellaceae_RC9*, *Lachnospiraceae_NK4B4*, y *Lachnospiraceae_ND3007* fueron la combinación de géneros que mejor discriminan la gota tofácea de los otros grupos (Figura 13)

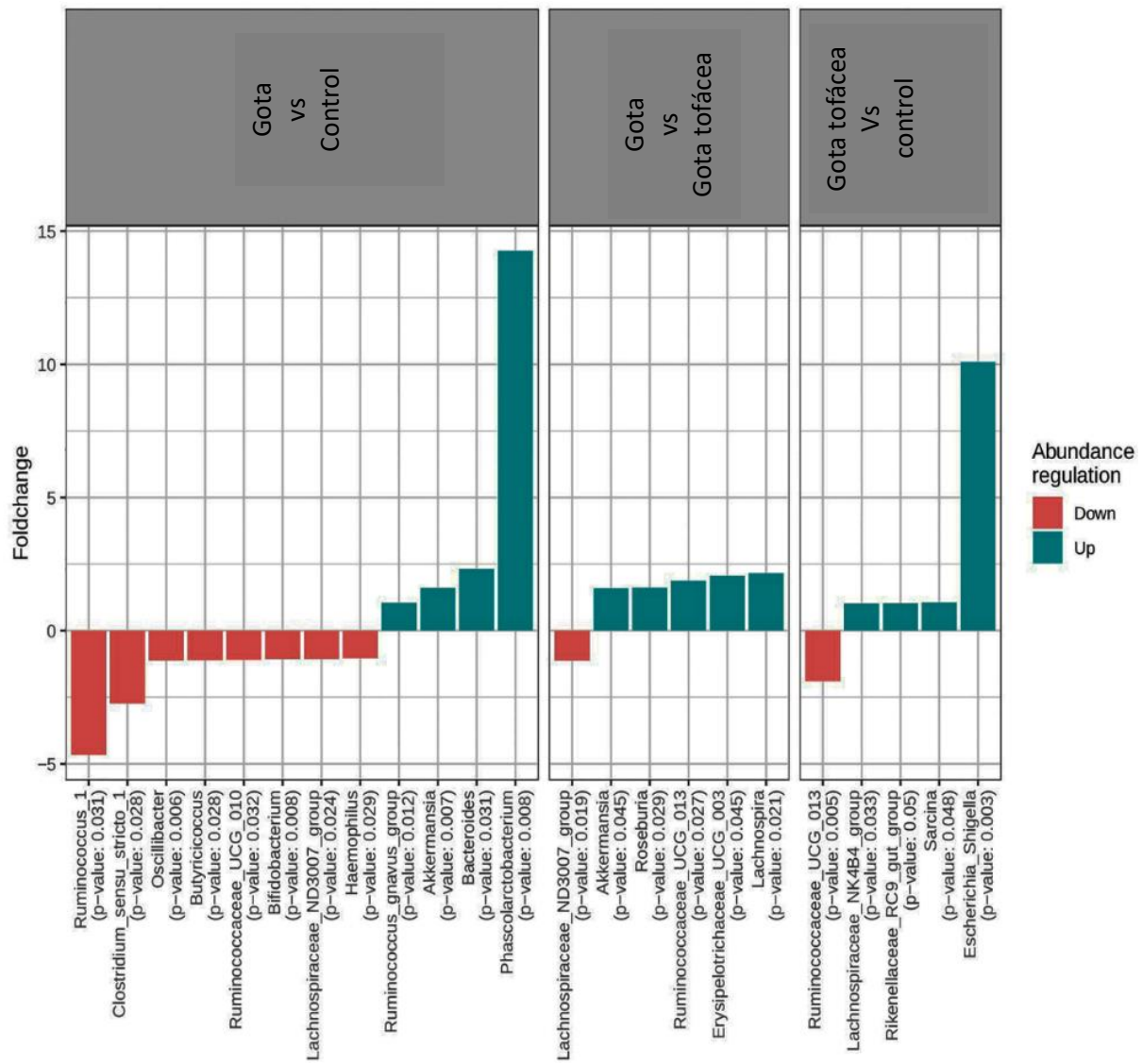


Figura 12. Cambio en la magnitud de las abundancias relativas de los géneros bacterianos que muestran diferencias significativas entre los grupos de gota y grupo control. El color azul (veces de cambio positivo, $A > B = +$) y el color rojo (veces de cambio negativo, $B > A = -$) indican un aumento o una disminución de los géneros bacterianos dentro de cada grupo, respectivamente.

10.6 Determinación de una microbiota intestinal compartida en grupos con gota

Bajo el criterio del límite de 0.01 de abundancia relativa, se observó que los grupos de gota compartieron entre ellos 130 ASVs. Mediante un diagrama de Venn se pudo detectar a los linajes comunes y compartidos mediante las áreas superpuestas de los círculos del gráfico. Del total de ASVs detectados, 1302 representaban una composición exclusiva en el grupo de gota, mientras que 1381 pertenecían al grupo de gota tofácea y 1974 linajes fueron únicos para el grupo control. Se encontró que todas las muestras compartieron 286 ASVs (Figura 14).

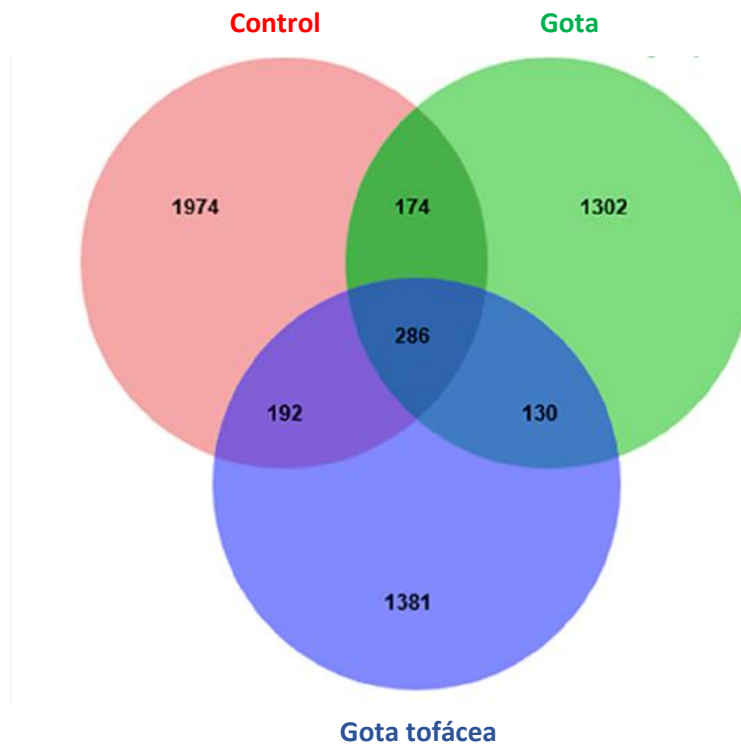


Figura 14. Diagrama de Venn de los ASVs compartidos entre los grupos de estudio. Muestra el número de ASVs compartidos y únicos entre los tres grupos de estudio. El microbioma central en los grupos de gota se representa en la superposición de los círculos verdes y azules. Grupo control (círculo rojo), grupo gota (círculo verde), grupo gota tofácea (círculo azul).

Por otro lado, el género más representativo dentro del filo de las proteobacterias era *Escherichia-Shigella* (34%) (Figura 16). Además, se identificó un conjunto de tres ASVs más abundantes dentro del género *Bacteroides* que incluyó a las siguientes tres especies: *Bacteroides caccae*, *Bacteroides stercoris* ATCC 43183, y *Bacteroides coprocola* (Figura 16).

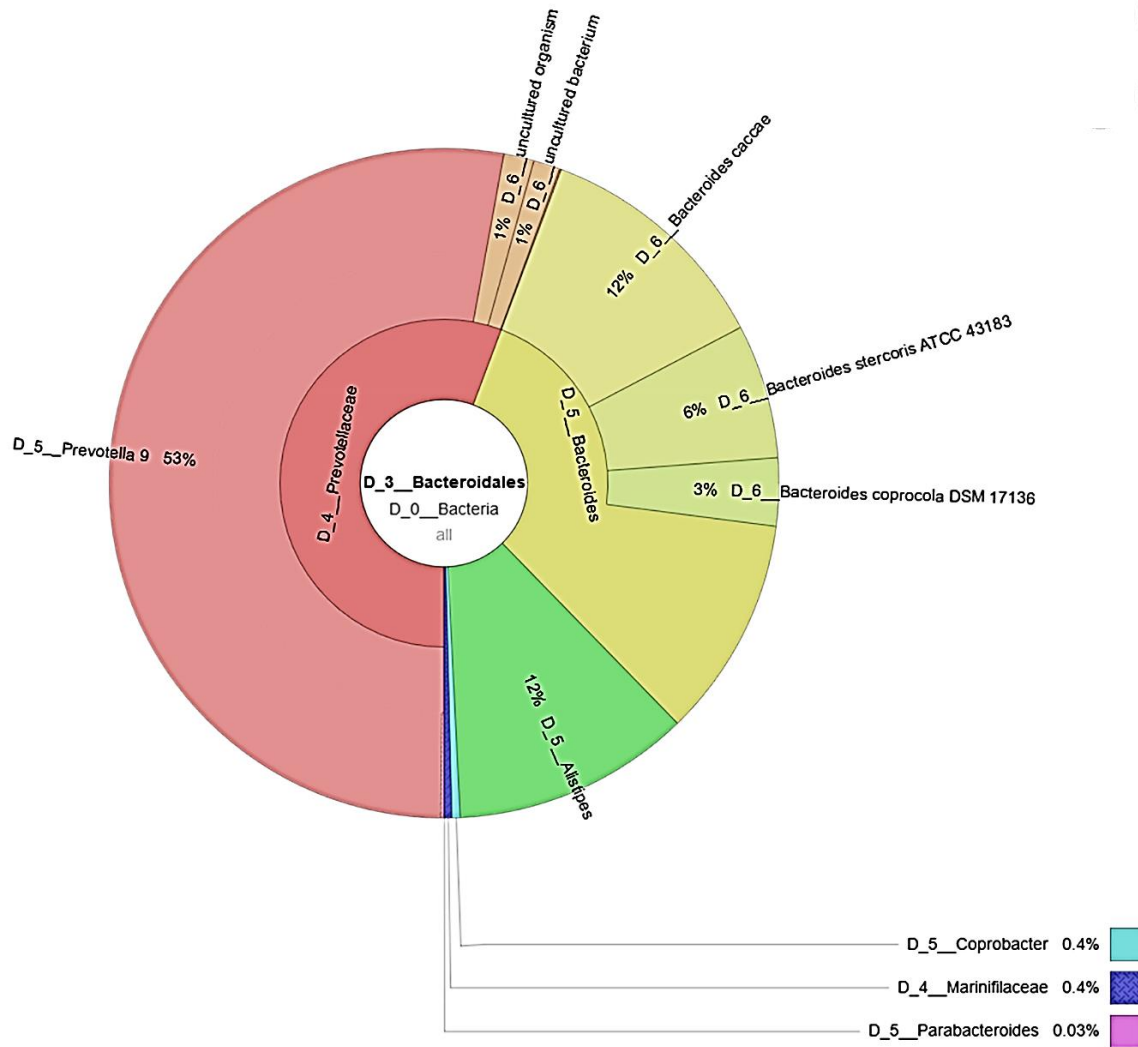


Figura 16. Gráfico Krona que representa la composición taxonómica de los ASVs más abundantes dentro del orden de los *Bacteroidales* compartidos entre los dos grupos de gota. Área amarilla representa el conjunto de linajes de especies de *Bacteroides*, la región verde del género *Alistipes* y la región roja del género *Prevotella 9*.

Entre controles y pacientes con gota se identificó 174 ASVs compartidos. Los principales se muestran en la figura 17; mientras que los controles y los pacientes con gota tofácea compartieron 192 ASVs (Figura 18).

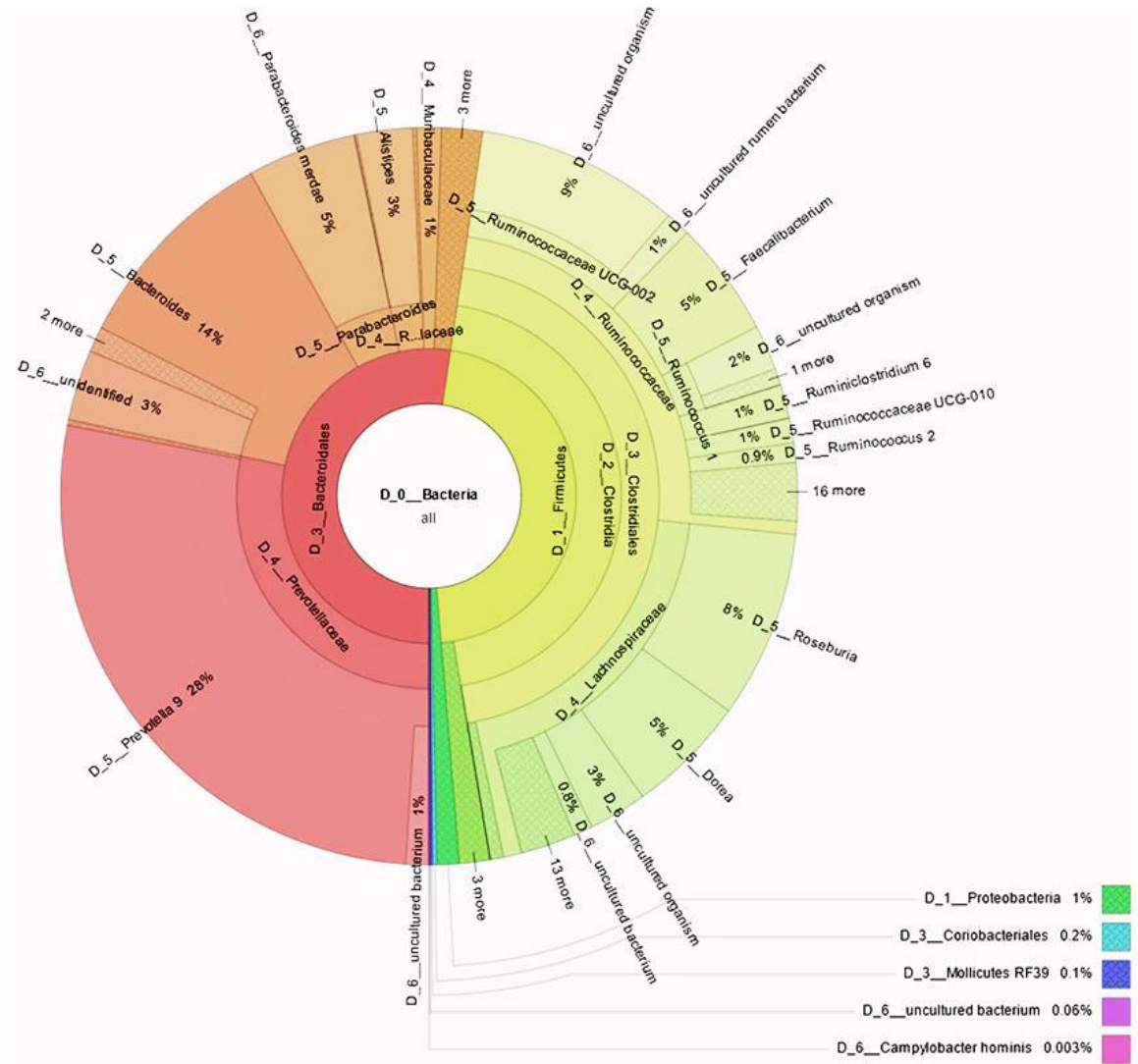


Figura 17. Principales ASVs compartidos entre los controles y los pacientes con gota. El gráfico muestra diversidad de colores que corresponden a los distintos linajes observados. Rojo para *Bacteroidales*, naranja para *Parabacteroidales*, verde-amarillo para *Clostridiales* y verde para *Gamma Proteobacteria*.

10.7 Predicción funcional de las bacterias comunes de la microbiota intestinal de los pacientes con gota

Se exploró una red de asociación de proteínas funcionales centrada en tres especies de bacterias cuya presencia se compartió entre los dos grupos de gota. (*Bacteroides caccae*, *Bacteroides stercoris* ATCC 43183 y *Bacteroides coproccola* DSM 17136). El análisis STRING de *Bacteroides caccae* reveló una red de interacción proteína-proteína (PPI) entre once proteínas con un enriquecimiento estadísticamente significativo ($p=0.0001$). Cinco de estas funciones fueron proteínas involucradas en el metabolismo de las purinas (*pbux* (xantina permeasa), *guaB* (inosina-5' monofosfato deshidrogenasa), *purL* (fosforibosil-formil-glicina-amidina sintasa), *xpt* (xantina fosforibosiltransferasa y *EDM21173.1* (GMP sintetasa)). Este enriquecimiento indica que las proteínas están parcialmente y biológicamente conectadas y contribuyen activamente en el metabolismo de las purinas ($FDR=0.0003$), la biosíntesis de GMP ($FDR=0.0009$) y la actividad de la glutaminasa (glutamina amidotransferasa) ($FDR=0.004$) (Figura 19).

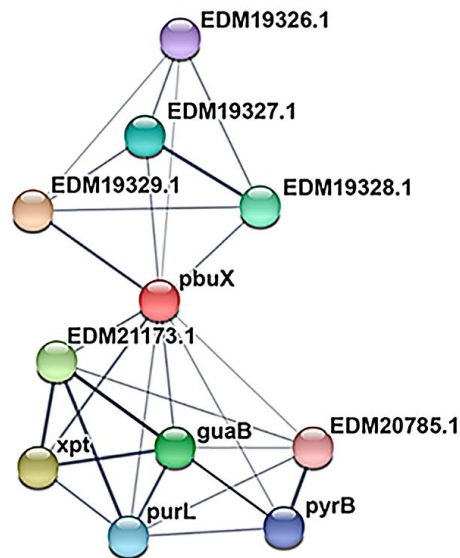


Figura 19. Análisis de predicción de las interacciones proteína-proteína STRING (*Bacteroides caccae*). El nodo rojo representa la proteína de consulta y en la que se establece la cobertura de las interacciones. Los subsecuentes nodos se colorean aleatoriamente según su función y las líneas más gruesas definen las asociaciones más robustas.

La predicción funcional para *Bacteroides stercoris* ATCC 43183, detectó proteínas de cuatro vías: biosíntesis de purina, metabolismo de un carbono, unión de nucleótidos y biosíntesis de aminoácidos, con un FDR de 2.55e-18, 0.002, 0.016 y 0.043, respectivamente. Las proteínas detectadas fueron: proteína bifuncional de biosíntesis de purina (*purH*), transformilasa AICAR/ciclohidrolasa IMP (*purH*), hidroximetiltransferasa de serina (*glyA*), adenilosuccinato sintetasa (*purA*), fosforibosilamina-glicina ligasa (*purD*), fosforibosilglicinamida formiltransferasa (*purN*), 5-fosforribosil-N-formilglicinamida (*purL*), fosforibosil-amino-imidazol-succinocarboxamida (SAICAR) sintasa (*purC*), e inosina-5'-monofosfato deshidrogenasa (*guaB*) (Figura 20).

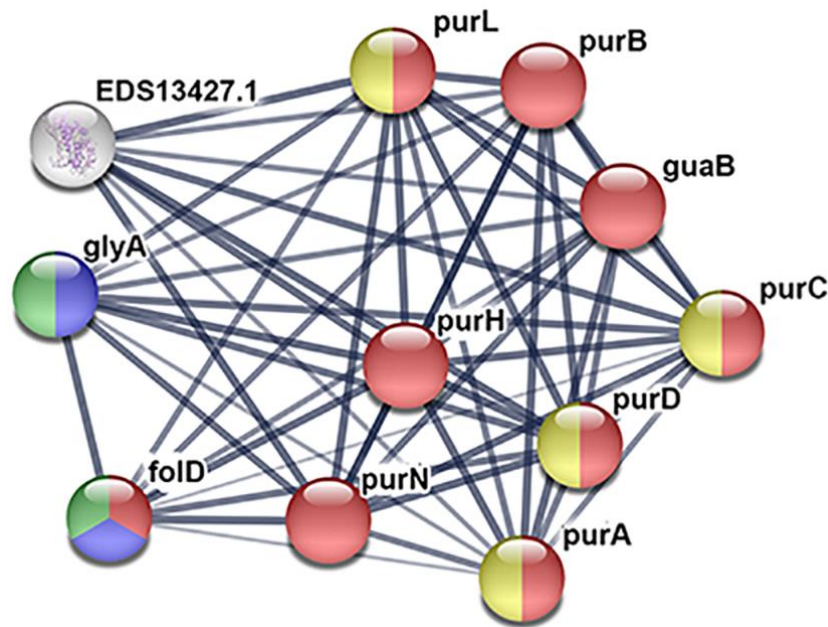


Figura 20. Análisis de predicción de las interacciones proteína-proteína STRING para la especie *Bacteroides stercoris* ATCC 43183. Los nodos se colorean según su función específica: biosíntesis de purina (rojo), metabolismo de un carbono (azul), unión de nucleótidos (amarillo) y biosíntesis de aminoácidos (verde) y las líneas más gruesas definen las asociaciones más robustas. Las proteínas implicadas en múltiples funciones están representadas en varios colores.

Finalmente, entre *Bacteroides coprocola* DSM 17136 y *Bacteroides stercoris* ATCC 43183 se detectó una red compartida de PPI para tres proteínas específicas que también participan en la biosíntesis de purina ($FDR=0.002$), y tres proteínas que participan en el metabolismo de un carbono ($FDR=1.76e-05$).

Además, *B. coprocola* DSM 17136 tuvo un enriquecimiento en la interacción proteína-proteína que incluía tres metiltransferasas (glyA, gcvT y thyA) ($FDR=0.001$), seis transferasas (purN, purH, glytA, gcvT, EDU99278.1 y fmt) ($FDR=4.60e-05$) y dos ligasas (fhs y folC) ($FDR=0.030$) (Figura 21).

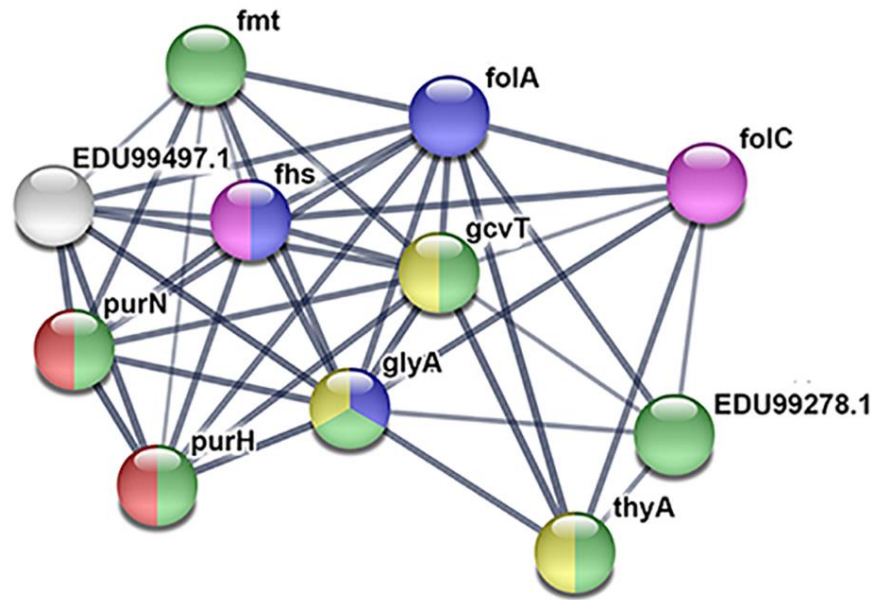


Figura 21. Análisis de predicción de las interacciones proteína-proteína STRING para las especies *Bacteroides coprocola* DSM 17136 y *Bacteroides stercoris* ATCC 43183. Se identificó la interacción proteína-proteína implicadas en el metabolismo de un carbono, la biosíntesis de purinas, así como en las metiltransferasas, transferasas y ligasas. Los nodos se colorean según su función: biosíntesis de purina (rojo), metabolismo de un carbono (azul), unión de nucleótidos (amarillo), biosíntesis de aminoácidos (verde) y ligasas (rosa). Las líneas más gruesas definen las asociaciones más robustas.

10.8 Predicciones de la actividad funcional detectada por KEGG entre los grupos de estudio

En general, se observó la presencia de 47 ortólogos funcionales de KEGG, relacionados con el metabolismo oxidativo de las purinas, vías metabólicas para la biosíntesis de purinas, el transporte de vitamina B12 y la excreción de urato que eran significativamente diferentes entre los grupos (Figura 23 A-C). Como se ilustra en la figura 22-A, se encontró que importantes funciones relacionadas a la vitamina B12 (proteína de permeasa y proteína de unión al sustrato); nucleósido permeasa; represor transcripcional del sistema de clivaje o división de la glicina; xantina deshidrogenasa subunidad de unión hierro-azufre; (fosforilasa [E.C 2.4.2.1 2.4.2.2]); (transaminasa [E.C 2.6.1.88]); (oxidorreductasas [E.C 1.17.1.4]); (transferasas [E.C 2.4.2.22], [E.C 2.4.2], y [E.C 2.7.4.23]); (hidrolasas [E.C 3.5.2.17], [E.C 3.5.3.26], y [E.C 3.5.3.9]), estuvieron enriquecidas en el microbioma intestinal de los pacientes con gota tofácea en comparación con los individuos sanos. Además, tanto la proteína accesoria de ureasa como la ureasa carboxilasa [E.C 6.3.4.6] fueron las más enriquecidas en el grupo control.

El análisis de KEGG también detectó diferencias estadísticamente significativas en las funciones del microbioma entre el grupo de control y los dos grupos de gota. En ese sentido, se encontró que la función glicina deshidrogenasa subunidad 2 [E.C. 1.4.4.2], se encontró aumentada en pacientes con gota sin tofos en comparación con los controles; mientras que en el grupo control existió un enriquecimiento de la ureasa subunidad alfa y gamma/beta [EC:3.5.1.5] en comparación con el grupo de la gota (Figura 22-B).

Finalmente, en las comparaciones funcionales del microbioma entre el grupo de gota tofácea *versus* gota, se detectó mayor enriquecimiento de la vía de la glicina reductasa [EC: 1.21.4.2] y en el componente B del complejo de la glicina reductasa subunidad alfa y beta en el grupo de gota tofácea, mientras que, en el grupo de gota sin tofos fue más abundante la actividad de purina nucleosidasa [EC:3.2.2.1] (Figura 22-C).

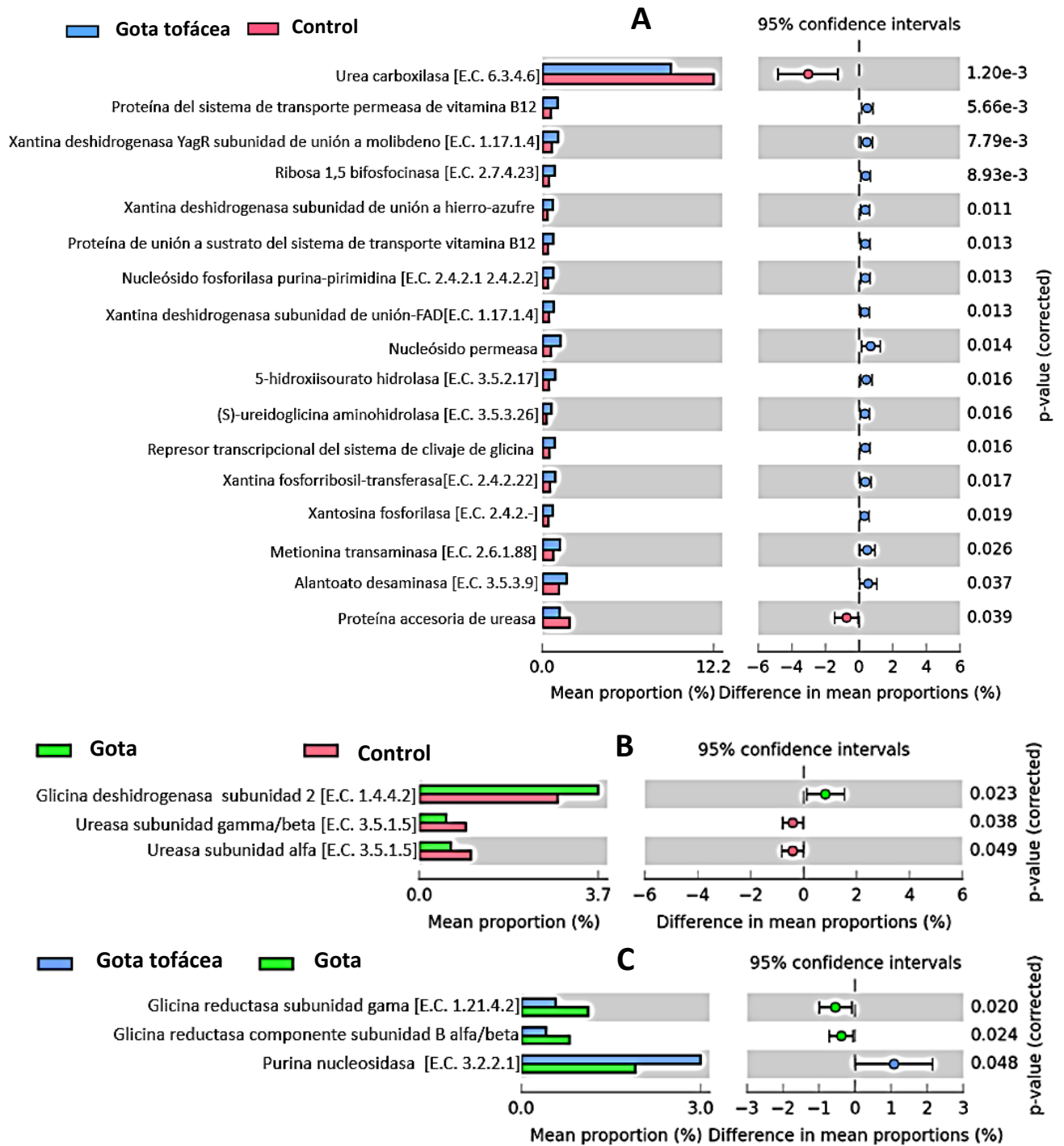


Figura 22 A-C. Gráfico de barras que representa las características metabólicas bajo la predicción KEGG que diferencian entre (A) pacientes con gota tofácea vs. controles, (B) pacientes con gota vs. controles, y (C) pacientes con gota tofácea vs. pacientes con gota. Las diferencias se consideran estadísticamente significativas con un valor corregido de $p < 0.05$, usando la prueba t de Welch.

11. DISCUSIÓN

A pesar de representar un tercio de la excreción total de ácido úrico, poco se sabe sobre el impacto de la excreción intestinal del AU en la artropatía inflamatoria denominada gota. Investigaciones recientes han demostrado un patrón repetido de alteraciones en la riqueza y diversidad de especies bacterianas residentes en el intestino humano asociado con la enfermedad.

En este estudio se encontró que existen variaciones y cambios taxonómicos entre los pacientes con gota en dos estadios de la enfermedad comparado con un grupo de individuos sin la enfermedad que fungieron como controles. Además, se observaron alteraciones de algunas funciones bacterianas involucradas en el metabolismo del AU.

Algunas investigaciones sugieren que la baja riqueza bacteriana en el microbioma intestinal se asocia con enfermedades crónicas y con un fenotipo inflamatorio más pronunciado ⁽¹⁰³⁾. Notablemente, en nuestro análisis se demostró una menor riqueza de especies en los pacientes con gota sin tofos que en los controles sanos. Estos resultados concuerdan con los informes anteriores donde se encontró una menor diversidad bacteriana en los pacientes chinos con gota, lo que sugiere que nuestra población de enfermos con gota de menor tiempo de evolución de la enfermedad padecen una disbiosis intestinal ⁽¹¹⁾.

Se evidenció una abundancia mayor de bacterias butirato productoras (*Butyricoccus* y *Oscillibacter*) en los individuos del grupo control. Esta es la primera vez que el género *Butyricoccus* es reportado sobrerrepresentado en un grupo control en comparación con los pacientes de gota. Además, el grupo control también presentó enriquecimiento de los géneros *Bifidobacterium*, *Clostridium_sensu_stricto_1*, y *Ruminococcus_1*, que previamente han sido catalogados como potencialmente benéficos por ser butirato-productores. La coexistencia de los géneros productores de butirato y de *Bifidobacterium* puede contribuir al mantenimiento de la barrera intestinal, así como a los procesos inmunomoduladores y antiinflamatorios ⁽¹⁰⁴⁻¹⁰⁶⁾. Zhuang G. y colaboradores

informaron sobre hallazgos similares al encontrar un enriquecimiento de especies bacterianas productoras de butirato *Clostridium* y *Bifidobacterium pseudocatenulatum* en el microbioma intestinal de individuos sanos. También observó que la abundancia de *Ruminococcus* estaba asociada negativamente con la enfermedad de la gota ⁽¹²⁾.

Se identificó que *Phascolarctobacterium* y *Bacteroides* estuvieron enriquecidos en ambos grupos de gota. Estos géneros se han encontrado sobrerrepresentados en el tracto intestinal de un modelo de rata hiperuricémica ⁽¹⁰⁷⁾. *Bacteroides*, es un enterotipo intestinal que promueve la conversión de urato en alantoína, y por lo tanto podría estar involucrado en la regulación de las concentraciones de AU en suero humano ⁽¹⁰⁸⁾. En nuestro análisis taxonómico se encontró que el género *Akkermansia* estuvo incrementado en los pacientes con gota en comparación con los controles y los pacientes con gota tofácea. Este género se ha asociado en los pacientes jóvenes con artritis relacionada con la entesitis ⁽¹⁰⁹⁾. Algunos estudios demostraron que *Bacteroides* y *Akkermansia* se encuentran disminuidos en los individuos con obesidad ⁽¹¹⁰⁾. Incluso, en un estudio desarrollado en escolares mexicanos se identificó que el enterotipo *Bacteroides* estuvo más sobrerrepresentado en niños con IMC normal y con desnutrición, comparado con niños con obesidad; lo que sugiere que este género no tendría una relación directa con el fenotipo de obesidad ⁽¹¹¹⁾.

En este estudio, se identificó un "microbioma común" para los dos grupos de gota representado por tres especies de *Bacteroides*. En un estudio reciente se demostró que el género *Bacteroides*, en particular, la especie *Bacteroides caccae*, se encuentra incrementado en pacientes con gota ⁽¹¹⁾. En general, en la predicción de las interacciones proteína-proteína para las especies de *Bacteroides* detectadas; se identificó la presencia de funciones involucradas en la biosíntesis de purinas y de nucleósidos *de novo* (*purH*, *purN*, *purC*, *guaB*, *purL*). Por otro lado, se identificó la presencia de funciones relacionadas al metabolismo de un carbono, como *fhs*. Esta ligasa, bajo condiciones anaeróbicas, permite la biosíntesis de 10-formil-THF (N¹⁰-f-THF); una de las diferentes formas de folato, esencial para la generación de

purinas, debido a que dona grupos de formilo para configurar los átomos C-2 y C-8 en el anillo de purina durante la biosíntesis *de novo* de purinas ^(112, 113).

También se encontró algunas proteínas capaces de biosintetizar o degradar la glicina (*glyA* y *gcvT*). Este aminoácido no esencial, es indispensable para la biosíntesis de ácidos nucleicos y AU, debido a que donan su nitrógeno amídico y su esqueleto carbonado en ambos anillos de purina ⁽¹¹⁴⁾. Ling Han y colaboradores, realizaron un cultivo al que se le agregó glicina, emulando un entorno similar al intestino, y descubrió un aumento en la tasa máxima de crecimiento específico de *E. coli*; lo que sugiere que la glicina es un aminoácido importante que apoya el crecimiento óptimo de algunos linajes bacterianos de la microbiota intestinal ⁽¹¹⁵⁾. Nuestro estudio de predicción funcional demostró una alta actividad del represor transcripcional del sistema de clivaje de glicina (GSC) en los pacientes con gota tofácea en comparación con el grupo control. Las bacterias podrían utilizar dicho GSC en el catabolismo de glicina para constituir amoniaco, CO₂ y un grupo metilo (-CH₂) para, a su vez, formar 5,10-metileno tetrahidrofolato.

El GSC, también llamado glicina sintasa, es esencialmente reversible y las bacterias anaeróbicas podrían catalizar la síntesis de glicina de forma significativa y regulada bajo las condiciones anaeróbicas que otorga el intestino distal humano ⁽¹¹⁶⁻¹¹⁸⁾., Shao y colaboradores demostraron el enriquecimiento de glicina en el perfil de metabolitos fecales de pacientes con gota. Este hallazgo, representa una posible implicación del aminoácido en la biosíntesis de nucleósidos, y en los procesos de excreción de AU a nivel intestinal de sujetos que padecen la enfermedad ⁽¹¹⁾. La desaminación y descarboxilación ejecutadas por las bacterias luminales colónicas a partir del catabolismo oxidativo final del AU y del metabolismo de un carbono, otorgan a los colonocitos el suministro de glicina a vena porta, y su posterior ingreso al hígado, que conllevaría a un mayor aprovechamiento del aminoácido como materia prima esencial en la biosíntesis de purinas mediante la donación de nitrógeno amídico, y un carbono a la estructura del anillo purínico⁽¹¹⁹⁾.

A pesar de las controversias sobre si la absorción de aminoácidos y péptidos en el intestino grueso es nutricionalmente relevante para el cuerpo humano, se ha demostrado que una cantidad mínima de aminoácidos pueden ser absorbibles en el colon; esto incluye, aminoácidos generados por el microbioma ^(120, 121). Este proceso de absorción podría llevarse a cabo por medio de transportadores de aminoácidos como el transportador GLYT1, que es el responsable de entre el 30 y el 50% de la absorción de glicina en las células epiteliales a través de la membrana basolateral de enterocitos y colonocitos⁽¹²²⁾. También, se encontró que las enzimas involucradas en la transaminación de metionina y el sistema de transporte de vitamina B12 se vieron aumentadas en los pacientes con gota tofácea en comparación con los controles sanos. Por lo tanto, es probable que el microbioma intestinal de los pacientes con gota tofácea con mayor tiempo de evolución de la enfermedad, no sólo participa en las vías de salvamento de nucleótidos y en la biosíntesis *de novo* de purinas, sino que también desempeña funciones esenciales en la síntesis *de novo* de los precursores de purinas (como la glicina), así como en la síntesis de N¹⁰-f-THF.

Nuestro estudio reveló que los pacientes con gota poseen un enriquecimiento de glicina deshidrogenasa comparado con los sujetos sin la enfermedad. Esta enzima también denominada Proteína P, cataliza la descarboxilación de la molécula de glicina hasta la formación de 5,10 metilen-tetrahidrofolato, y la liberación de CO₂.⁽¹²³⁾ Nuestros hallazgos también demuestran que la glicina reductasa estuvo significativamente enriquecida en los pacientes con gota en comparación con los pacientes con gota tofácea. Esta ruta metabólica es indispensable para asimilar los compuestos de un carbono, a través del metabolismo de un carbono mediado por el cofactor de folato;⁽¹²⁴⁾ que asegura la biosíntesis de purinas y la homeostasis de aminoácidos, incluyendo la glicina, la serina y la metionina ⁽²²⁾.

La enzima purina nucleosidasa que fue más abundante en los pacientes con gota tofácea en comparación con los pacientes con gota, está implicada en la formación de nucleobases ⁽¹²⁵⁾. En 2006, Ogawa informó que la elevada actividad purina nucleosidasa de algunas bacterias anaeróbicas que residen en el intestino de ratas

hiperuricémicas, ayudó a reducir los niveles de AU sérico en esos animales. Esta enzima puede desempeñar un papel de mecanismo desconocido en la modulación de los niveles de AU sérico en los pacientes con gota tofácea ⁽¹²⁶⁾.

En comparación con los controles, el grupo de gota tofácea presentó un enriquecimiento de *Proteobacteria*, que estuvo acompañado de un enriquecimiento de *Escherichia-Shigella*, *Sarcina*, *Rikenellaceae_RC9* y *Lachnospiraceae_NK4B4*. Resultados similares fueron publicados recientemente ⁽¹²⁷⁾, en los que se encontró una alta proliferación de *Proteobacteria* (en particular *Escherichia-Shigella*) de la microbiota intestinal en animales carentes de urato oxidasa. La presencia de estas bacterias podría desempeñar un papel crucial en el desarrollo de la gota. Es bien sabido que la sobrepoblación de *Proteobacteria* puede representar un biomarcador bacteriano de disbiosis intestinal ⁽¹²⁸⁾.

En el presente estudio, revelamos la presencia de tres isoformas bacterianas de xantina deshidrogenasa con actividad de oxidoreductasa en pacientes con gota tofácea. Un estudio anterior demostró un aumento de la xantina deshidrogenasa en pacientes con gota ⁽¹²⁾. Esta enzima desempeña un papel fundamental en la oxidación sucesiva de la hipoxantina a xantina y de xantina a AU ⁽¹²⁹⁾. La oxidación del AU produce posteriormente 5-hidroxiisourato, alantoína, (S)-ureidoglicina, y el producto final del catabolismo de purina; glioxilato, oxalurato y glicina ⁽⁸⁷⁾. Hualin Xi y colaboradores, reveló que los linajes bacterianos pertenecientes a *Escherichia-Shigella*, que en nuestro estudio se encontraron enriquecidos entre los pacientes con gota tofácea, podrían contribuir a la recuperación y salvamento de purinas, por inducción de la actividad de la xantina deshidrogenasa⁽¹³⁰⁾. Los autores señalan que esta acción podría permitir a estas bacterias obtener nitrógeno como medio de supervivencia a partir de las purinas formadas.

Un estudio reciente demostró que miembros de *Escherichia* participan en la ruta para la biosíntesis de Formil-THF, compuesto implicado en la síntesis de purinas. Asimismo, dichos linajes bacterianos se encuentran asociados con la actividad

metabólica de la xantina deshidrogenasa [E.C 1.17.1.4] en el intestino, y participan activamente en el catabolismo oxidativo de la xantina ⁽¹³¹⁾.

Otro hallazgo importante realizado en este estudio fue el enriquecimiento de las enzimas implicadas en el catabolismo final de purinas (5-hidroxiisourato hidrolasa, alantoato desaminasa y (S)-ureidoglicina aminohidrolasa) en pacientes con gota tofácea frente a los controles.

Existen pruebas de una respuesta adaptativa que requiere la degradación de la alantoína en los miembros de *Escherichia-Shigella* que se encuentran en un medio privado de nitrógeno a largo plazo en entornos anaeróbicos ⁽¹³²⁾. Linajes que pertenecen al género *Escherichia-Shigella* como *E. coli*, pueden obtener cuatro átomos de nitrógeno de las purinas, mientras que sólo puede obtener un átomo de nitrógeno de cada molécula de uracilo a través de la vía catabólica reductora de pirimidinas ^(133, 134). Dado que los pacientes con gota estarán sometidos de por vida a un tratamiento de entre 300-600mg de alopurinol, que inhibe a la xantina oxidasa y la producción de ácido úrico; parece latente la posibilidad de la ausencia de productos nitrogenados derivados del catabolismo oxidativo final de AU en intestino (alantoína), hacia los nichos bacterianos intestinales; y en este trabajo, se formuló la hipótesis de que el aumento de la actividad de la xantina deshidrogenasa y las enzimas uricosúricas que posibilitan la oxidación del AU, deriva de un proceso adaptativo del microbioma intestinal en pacientes con gota tofácea, que puede atribuirse a un tratamiento prolongado con bloqueadores de xantina oxidasa (alopurinol). Este fármaco anti-hiperuricémico, inhibe la producción de AU y, por lo tanto, la formación de alantoína por parte de las bacterias uricosúricas intestinales ⁽¹³⁵⁾.

Bajo esta hipótesis, investigaciones como la presentada por Garud N.R y colaboradores, demostró la presencia de altas tasas de rotación y sustitución en las comunidades bacterianas intestinales ⁽¹³⁶⁾. El reemplazo de cepas bacterianas son el resultado de ganancias o pérdidas de genes con funciones específicas, que pueden ser típicamente reemplazadas por otras especies. Estos rápidos cambios

en la composición de las comunidades bacterianas intestinales sugieren, pueden ser a corto plazo (6 meses), y en largas escalas de tiempo dentro del hospedero según las preferencias de las diferentes cepas cuando enfrentan desafíos ambientales como los tratamientos con fármacos o la dieta.

Esta ventaja selectiva es más evidente en los patógenos oportunistas bacterianos que se adaptan rápidamente a nuevos entornos y establecen nichos, que, por un lado, les permite adquirir nuevas fuentes energéticas y por otro, evitan ser eliminados por otras bacterias que forman parte del sistema inmunológico innato. Dicha adaptación, deriva del aprovechamiento de mutaciones y la presentación de nuevas variantes y firmas genealógicas acumuladas en meses o años y que les confiere reemplazos dinámicos consecutivos ⁽¹³⁷⁾. La alta presencia de *Escherichia-Shigella*, que posee dentro de sus linajes a diversas especies patogénicas oportunistas, podría ser parte de dichos cambios de cepas dentro del intestino de los enfermos con gota, y respondería a un proceso evolutivo principalmente atribuible a la restricción de nitrógeno que las bacterias adquieren del anillo bicíclico del AU, lo que conllevaría a una fuerte presión de selección y adaptación entre especies que compitan por los sustratos disponibles para su coexistencia.

Un estudio reciente encontró que el tratamiento con alopurinol en ratas hiperuricémicas, causó un incremento de géneros bacterianos que incluyó *Bifidobacterium* y *Collinsella*. Además, se detectó una disminución en la abundancia relativa de los géneros *Adlercreutzia*, *Anaerostipes*, *Bilophila*, *Morganella*, y *Desulfovibrio* ⁽¹³⁸⁾. Mediante un análisis bioinformático por (PICRUST), encontraron también una asociación entre el consumo de alopurinol y una disminución en la actividad metabólica de nucleótidos. No obstante, esos resultados no son concordantes con las abundancias relativas presentadas en nuestros grupos con gota, ya que, inclusive el género *Bifidobacterium* presentó un enriquecimiento en el grupo control. Por otro lado, en nuestros grupos con gota se detectó el incremento de algunas funciones relacionadas con la formación de precursores de nucleósidos y nucleótidos en comparación con el grupo control (Figura 6). Se requerirán estudios

que evalúen una posible alteración de la microbiota intestinal en pacientes con gota tofácea y no tofácea sometidos a tratamiento con inhibidores de xantina oxidasa.

El análisis de predicción funcional expuso que las ureasas son las enzimas con mayor abundancia en los controles en comparación con los grupos con gota, lo que sugiere que las ureasas de la microbiota intestinal pueden desempeñar un papel crucial en la degradación final de las purinas y los ureidos para producir urea. La hidrólisis de la urea permite la adquisición de nitrógeno como una valiosa fuente de energía. Además, su producción indica un estado homeostático que evita la acumulación endógena de AU ^(139, 140).

Libin Pan propuso que la modulación de la microbiota intestinal, así como el uso de la actividad metabólica de las ureasas, podrían ayudar en el tratamiento y prevención de la nefropatía por hiperuricemia ⁽¹⁴¹⁾.

El microbioma intestinal es un componente esencial para comprender la complejidad de la gota. Algunos de nuestros hallazgos son consistentes con estudios previos que evalúan el microbioma intestinal en la artritis gotosa. Sin embargo, la etnicidad y factores dietéticos entre los grupos de esos estudios en China y nuestros grupos de estudio; son aspectos que se deberán considerar para establecer las similitudes entorno a las características taxonómicas y funcionales de la microbiota intestinal entre las distintas nacionalidades. Por ejemplo, particularmente algunos grupos étnicos en Oceanía han mostrado una alta susceptibilidad a padecer gota; pero, en contraste, algunas poblaciones indígenas mexicanas como las mixtecas y chontales muestran una muy baja prevalencia de la enfermedad ⁽¹⁴²⁾. Por otro lado, en Asia, en la provincia China de Shandong y en Hong Kong, la gota es más prevalente con respecto al resto del país (1.4 y 2.9% respectivamente *versus* <0.05%) ⁽³⁴⁾. Este último dato sugiere que la prevalencia de la enfermedad podría estar aumentada en función de ciertos factores ambientales como la dieta; ya que, en ciudades como Hong Kong se ha producido el fenómeno de la transición nutricional, donde ha ganado popularidad el consumo de dietas occidentalizadas, que se traduce en un aumento de consumo de alimentos

procesados y alto consumo de carnes rojas ⁽¹⁴³⁾. De hecho, aunque China se modernizó más tarde que los países de América Latina, muchos de los cambios observados en este país asiático coinciden con los de esta región en relación al aumento de enfermedades como la obesidad y enfermedades no transmisibles incluyendo la gota ⁽¹⁴⁴⁾.

En población mexicana, se ha calculado que la prevalencia de gota es de 3%⁽¹⁴⁵⁾, cifra que correlaciona con la oscilación del cálculo de prevalencia en las provincias chinas donde desarrollaron los únicos estudios de microbioma intestinal en gota.

Uno de los hallazgos taxonómicos con mayor semejanza entre los estudios reportados y el nuestro, es la aparición de bacterias del orden de los *Bacteroidales*, y dado que el enriquecimiento de *Bacteroides* puede ser una huella taxonómica presente en la gota, nuestro trabajo implicó una comprensión funcional de las especies de *Bacteroides* detectadas en la microbiota compartida de los grupos con gota. En ese sentido, mediante predicciones funcionales vía STRING identificamos múltiples proteínas que orquestan la síntesis de *de novo*, el salvamento y la formación de metabolitos intermedios de purinas. Otro resultado común entre nuestra investigación con las previamente reportadas, es la alta abundancia de *Proteobacteria* y el género *Escherichia-Shigella*, que representó el 34% de la microbiota compartida entre nuestros grupos de gota. Xi y colaboradores detectaron este patrón en un modelo animal carente de xantina oxidasa ⁽¹²⁷⁾, y señalaron que la alta proliferación de estas bacterias en intestino, pueden ser un factor a considerar en la disrupción de la excreción extrarrenal del AU y su posible contribución en el desarrollo de la gota.

En relación a las funciones del microbioma detectadas en nuestro estudio, se identificó un aumento de la 5-hidroxisourato hidrolasa en pacientes con gota tofácea comparado con el grupo control. Esta enzima se encontró presente en individuos coreanos con menores concentraciones séricas de AU ⁽¹⁰⁸⁾, y su función es oxidar el AU a alantoína. En este estudio hemos dilucidado el enriquecimiento de tres isoformas de la enzima la xantina deshidrogenasa en pacientes con gota tofácea,

que también fue encontrada aumentada en pacientes con gota chinos ⁽¹²⁾. Esta oxidorreductasa cataliza la formación de AU a partir de xantina.

Por otro lado, nuestro estudio incluyó un 98.2% de varones entre los dos grupos con gota y 87 % de los controles, mientras que el grupo de mujeres en el grupo control representó únicamente el 13 % del total y sólo el 1.8 % en los grupos de gota. Bajo el criterio de normouricemia, se consideró la inclusión de todos los individuos en nuestros grupos de estudio, incluyendo a los enfermos con gota que se encuentran bajo tratamiento con inhibidores de xantina oxidasa. En general, un estudio de 1135 metagenomas demostró que la variación en la composición de la microbiota intestinal únicamente representó el 0.5% explicado por sexo⁽¹⁴⁶⁾. Hasta el momento, no existen en la literatura estudios que realicen una caracterización del microbioma intestinal de mujeres hiperuricémicas o con gota. La gota ha sido considerada una enfermedad históricamente masculina y la mayoría de las investigaciones en gota se han desarrollado en hombres ⁽¹⁴⁷⁾. Esto podría explicarse por el efecto protector que ejercen las hormonas esteroides (estrógenos) en mujeres que no han atravesado la menopausia. Además, se ha demostrado que las mujeres son más susceptibles a la hiperuricemia después de la menopausia, por lo que se requerirán futuros estudios que aborden la posible alteración del microbioma intestinal en esta población femenina.

Los cambios de la microbiota intestinal mostrados en este estudio pueden proporcionar huellas metabólicas de los pacientes con gota; o bien pueden aprovecharse para comprender las vías metabólicas intactas en los individuos sanos, así como aquellas que manifiestan una alta actividad (ureasas). No obstante, una limitación notable de nuestro estudio es que los datos de 16s no permiten la inferencia directa de los genes de la población bacteriana encontrada. Por lo tanto, la secuenciación metagenómica de escopeta (shotgun) y estudios metatranscriptómicos, permitirían un mejor acercamiento que garantice inferencias más precisas de la estructura bacteriana y la expresión real de los genes para identificar rasgos genómicos específicos de las bacterias que conforman los nichos de la microbiota intestinal en los pacientes con gota.

12. CONCLUSIONES

Los resultados ponen en manifiesto las diferencias de riqueza de especies y diversidad taxonómica de la microbiota intestinal entre dos grupos de gota en diferentes etapas de la enfermedad en comparación con los sujetos sanos. En el grupo de gota sin tofos se observó una menor riqueza bacteriana comparada con el control, mientras que el grupo con gota tofácea presentó un enriquecimiento de *Proteobacteria (Escherichia-Sigella)*. Ambos patrones pueden indicar procesos de disbiosis intestinal.

En general, se encontró un enriquecimiento de las distintas funciones dentro del microbioma de ambos grupos de gota relacionadas con el metabolismo del AU, el metabolismo de un carbono, la biosíntesis de aminoácidos y biosíntesis de nucleósidos y biosíntesis de purinas.

13. REFERENCIAS

1. Dalbeth N, Choi HK, Joosten LAB, Khanna PP, Matsuo H, Perez-Ruiz F, et al. Gout. *Nature reviews Disease primers*. 2019;5(1):69.
2. Narang RK, Topless R, Cadzow M, Gamble G, Stamp LK, Merriman TR, et al. Interactions between serum urate-associated genetic variants and sex on gout risk: analysis of the UK Biobank. *Arthritis research & therapy*. 2019;21(1):13.
3. Dalbeth N, Collis J, Gregory K, Clark B, Robinson E, McQueen FM. Tophaceous joint disease strongly predicts hand function in patients with gout. *Rheumatology*. 2007;46(12):1804-7.
4. Yusuke Kawamura Hn, Akiyoshi nakayama, Yukinori okada, Ken Yamamoto, Toshihide Higashino, Masayuki sakiyama. Genome-wide association study revealed novel loci which aggravate asymptomatic hyperuricaemia into gout. *Annals of the rheumatic diseases*. 2019:1-8.
5. Bobulescu IA, Moe OW. Renal transport of uric acid: evolving concepts and uncertainties. *Advances in chronic kidney disease*. 2012;19(6):358-71.
6. Xu X, Li C, Zhou P, Jiang T. Uric acid transporters hiding in the intestine. *Pharmaceutical biology*. 2016;54(12):3151-5.
7. Alvarez-Lario B, Macarron-Vicente J. Uric acid and evolution. *Rheumatology*. 2010;49(11):2010-5.
8. Ramazzina I, Folli, C., Secchi, A., Berni, R., & Percudani, R. . Completing the uric acid degradation pathway through phylogenetic comparison of whole genomes. *Nature chemical biology*. 2006;2:144-8.
9. Sorensen LBL, D. J. . Origin and extrarenal elimination of uric acid in man. *Nephron* 1975;14:7–20.
10. Maiuolo J, Oppedisano F, Gratteri S, Muscoli C, Mollace V. Regulation of uric acid metabolism and excretion. *International journal of cardiology*. 2016;213:8-14.
11. Shao T, Shao L, Li H, Xie Z, He Z, Wen C. Combined Signature of the Fecal Microbiome and Metabolome in Patients with Gout. *Frontiers in microbiology*. 2017;8:268.
12. Guo Z, Zhang J, Wang Z, Ang KY, Huang S, Hou Q, et al. Intestinal Microbiota Distinguish Gout Patients from Healthy Humans. *Scientific reports*. 2016;6:20602.

13. Lim MY, Rho M, Song Y-M, Lee K, Sung J, Ko G. Stability of Gut Enterotypes in Korean Monozygotic Twins and Their Association with Biomarkers and Diet. *Scientific reports*. 2014;4(1).
14. Bursill D, Taylor WJ, Terkeltaub R, Kuwabara M, Merriman TR, Grainger R, et al. Gout, Hyperuricemia, and Crystal-Associated Disease Network Consensus Statement Regarding Labels and Definitions for Disease Elements in Gout. *Arthritis care & research*. 2019;71(3):427-34.
15. Barsoum R, El-Khatib M. Uric acid and life on earth. *Journal of advanced research*. 2017;8(5):471-4.
16. So A, Thorens B. Uric acid transport and disease. *The Journal of clinical investigation*. 2010;120(6):1791-9.
17. McNabb RA. Physiological chemistry of uric acid: solubility, colloid and ion-binding properties. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. 1980;67:27-34.
18. Maesaka JK, & Fishbane, S. Regulation of renal urate excretion: a critical review. *American journal of kidney diseases*.32(6):917-33.
19. Kang D-H, Johnson RJ. Uric Acid Metabolism and the Kidney. 2015:418-28.
20. Benn CL, Dua P, Gurrell R, Loudon P, Pike A, Storer RI, et al. Physiology of Hyperuricemia and Urate-Lowering Treatments. *Frontiers in medicine*. 2018;5:160.
21. Kiyoko Kaneko, Yasuo Aoyagi, Tomoko Fukuuchi, Katsunori Inazawa NY, Abe J. Total Purine and Purine Base Content of Common Foodstuffs for Facilitating Nutritional Therapy for Gout and Hyperuricemia. *Biol Pharm Bull*. 2014;37:709-21.
22. Ducker GS, Rabinowitz JD. One-Carbon Metabolism in Health and Disease. *Cell metabolism*. 2017;25(1):27-42.
23. Baynes JW, and Marek H. Dominiczak. . *Bioquímica médica*. Elsevier. 2019.
24. Dan A. Wiginton MSC, and John J. Hutton. Characterization of Purine Nucleoside Phosphorylase from Human Granulocytes and Its Metabolism of Deoxyribonucleosides. *The Journal of biological chemistry*. 1980;255:6663-9.
25. Ahmet Kalkan VB, Ozcan Erel, Senel Avci, Namik Kemal Bingol. Adenosine Deaminase and Guanosine Deaminase Activities in Sera of Patients with Viral Hepatitis. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1999;94:383-6.
26. Kamat SS, Raushel FM. Adenine Deaminase. 2004:1-9.

27. Bhatnagar V, Richard EL, Wu W, Nievergelt CM, Lipkowitz MS, Jeff J, et al. Analysis of ABCG2 and other urate transporters in uric acid homeostasis in chronic kidney disease: potential role of remote sensing and signaling. *Clinical kidney journal*. 2016;9(3):444-53.
28. Sauer N, Mosenthin R, Bauer E. The role of dietary nucleotides in single-stomached animals. *Nutrition research reviews*. 2011;24(1):46-59.
29. Martillo MA, Nazzal L, Crittenden DB. The crystallization of monosodium urate. *Current rheumatology reports*. 2014;16(2):400.
30. Sellam J, Berenbaum F. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nature reviews Rheumatology*. 2010;6(11):625-35.
31. Gonzalez-Rozas M, Prieto de Paula JM, Franco Hidalgo S, Lopez Pedreira MR. [Chronic tophaceous gout]. *Semergen*. 2013;39(6):e29-34.
32. Smith E, Hoy D, Cross M, Merriman TR, Vos T, Buchbinder R, et al. The global burden of gout: estimates from the Global Burden of Disease 2010 study. *Annals of the rheumatic diseases*. 2014;73(8):1470-6.
33. Ragab G, Elshahaly M, Bardin T. Gout: An old disease in new perspective - A review. *Journal of advanced research*. 2017;8(5):495-511.
34. Kuo CF, Grainge MJ, Zhang W, Doherty M. Global epidemiology of gout: prevalence, incidence and risk factors. *Nature reviews Rheumatology*. 2015;11(11):649-62.
35. Vargas-Santos AB, Neogi T, da Rocha Castelar-Pinheiro G, Kapetanovic MC, Turkiewicz A. Cause-Specific Mortality in Gout: Novel Findings of Elevated Risk of Non-Cardiovascular-Related Deaths. *Arthritis & rheumatology*. 2019;71(11):1935-42.
36. Riches PL, Wright AF, Ralston SH. Recent insights into the pathogenesis of hyperuricaemia and gout. *Human molecular genetics*. 2009;18(R2):R177-84.
37. Bardin T, Richette P. Definition of hyperuricemia and gouty conditions. *Current opinion in rheumatology*. 2014;26(2):186-91.
38. Smith EU, Diaz-Torne C, Perez-Ruiz F, March LM. Epidemiology of gout: an update. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 2010;24(6):811-27.
39. Reginato AM, Mount DB, Yang I, Choi HK. The genetics of hyperuricaemia and gout. *Nature reviews Rheumatology*. 2012;8(10):610-21.

40. Merriman TR. An update on the genetic architecture of hyperuricemia and gout. *Arthritis research & therapy*. 2015;17:98.
41. Liqing Xu YS, Shougang Zhuang, Na Liu. Recent advances on uric acid transporters. *Oncotarget*. 2017;8(57).
42. Matsuo H, Nakayama A, Sakiyama M, Chiba T, Shimizu S, Kawamura Y, et al. ABCG2 dysfunction causes hyperuricemia due to both renal urate underexcretion and renal urate overload. *Scientific reports*. 2014;4:3755.
43. Torres RJ, de Miguel E, Bailen R, Banegas JR, Puig JG. Tubular urate transporter gene polymorphisms differentiate patients with gout who have normal and decreased urinary uric acid excretion. *J Rheumatol*. 2014;41(9):1863-70.
44. Major TJ, Dalbeth N, Stahl EA, Merriman TR. An update on the genetics of hyperuricaemia and gout. *Nature reviews Rheumatology*. 2018;14(6):341-53.
45. Kottgen A, Albrecht E, Teumer A, Vitart V, Krumsiek J, Hundertmark C, et al. Genome-wide association analyses identify 18 new loci associated with serum urate concentrations. *Nature genetics*. 2013;45(2):145-54.
46. Kuo CF, Grainge MJ, See LC, Yu KH, Luo SF, Valdes AM, et al. Familial aggregation of gout and relative genetic and environmental contributions: a nationwide population study in Taiwan. *Annals of the rheumatic diseases*. 2015;74(2):369-74.
47. Patapong TOWIWAT Z-GL. The association of vitamin C, alcohol, coffee, tea, milk and yogurt with uric acid and gout. *International Journal of Rheumatic Diseases* 2015;18:495–501.
48. Choi HK, Atkinson K, Karlson EW, Willett W, Curhan G. Alcohol intake and risk of incident gout in men: a prospective study. *The Lancet*. 2004;363(9417):1277-81.
49. Choi HK. A prescription for lifestyle change in patients with hyperuricemia and gout. *Current opinion in rheumatology*. 2010;22(2):165-72.
50. Reginato HKCDBMaAM. Pathogenesis of Gout. *Ann Intern Med*. 2005;143:499-516.
51. de Yébenes MJG. GUÍA DE PRÁCTICA CLÍNICA PARA EL MANEJO DE LA GOTA.
52. Jamnik J, Rehman S, Blanco Mejia S, de Souza RJ, Khan TA, Leiter LA, et al. Fructose intake and risk of gout and hyperuricemia: a systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ open*. 2016;6(10):e013191.

53. George Thompson AM, Ursu O, Babkin P, Iancu CV, Whang A, Oprea TI, et al. Discovery of a specific inhibitor of human GLUT5 by virtual screening and in vitro transport evaluation. *Scientific reports*. 2016;6:24240.
54. Hak AE, Curhan GC, Grodstein F, Choi HK. Menopause, postmenopausal hormone use and risk of incident gout. *Annals of the rheumatic diseases*. 2010;69(7):1305-9.
55. Terkeltaub R, Bushinsky DA, Becker MA. Recent developments in our understanding of the renal basis of hyperuricemia and the development of novel antihyperuricemic therapeutics. *Arthritis research & therapy*. 2006;8 Suppl 1:S4.
56. Hosomi A, Nakanishi T, Fujita T, Tamai I. Extra-renal elimination of uric acid via intestinal efflux transporter BCRP/ABCG2. *PloS one*. 2012;7(2):e30456.
57. Takada T, Ichida K, Matsuo H, Nakayama A, Murakami K, Yamanashi Y, et al. ABCG2 dysfunction increases serum uric acid by decreased intestinal urate excretion. *Nucleosides, nucleotides & nucleic acids*. 2014;33(4-6):275-81.
58. Nigam SK, Bhatnagar V. The systems biology of uric acid transporters: the role of remote sensing and signaling. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 2018;27(4):305-13.
59. Ichida K, Matsuo H, Takada T, Nakayama A, Murakami K, Shimizu T, et al. Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia. *Nature communications*. 2012;3:764.
60. Papakostas K, Botou M, Frillingos S. Functional identification of the hypoxanthine/guanine transporters YjcD and YgfQ and the adenine transporters PurP and YicO of *Escherichia coli* K-12. *The Journal of biological chemistry*. 2013;288(52):36827-40.
61. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JL. The human microbiome project. *Nature*. 2007;449(7164):804-10.
62. Yang X, Xie L, Li Y, Wei C. More than 9,000,000 unique genes in human gut bacterial community: estimating gene numbers inside a human body. *PloS one*. 2009;4(6):e6074.
63. Kurokawa K, Itoh T, Kuwahara T, Oshima K, Toh H, Toyoda A, et al. Comparative metagenomics revealed commonly enriched gene sets in human gut microbiomes. *DNA research : an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes*. 2007;14(4):169-81.

64. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of lipid research*. 2013;54(9):2325-40.
65. LeBlanc JG, Chain F, Martin R, Bermudez-Humaran LG, Courau S, Langella P. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. *Microbial cell factories*. 2017;16(1):79.
66. Louis P, Flint HJ. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environmental microbiology*. 2017;19(1):29-41.
67. Cooke G, Behan J, Costello M. Newly identified vitamin K-producing bacteria isolated from the neonatal faecal flora. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2009;18(3-4):133-8.
68. Martens JH, Barg H, Warren MJ, Jahn D. Microbial production of vitamin B12. *Applied microbiology and biotechnology*. 2002;58(3):275-85.
69. Degan PH, Taga ME, Goodman AL. Vitamin B12 as a modulator of gut microbial ecology. *Cell metabolism*. 2014;20(5):769-78.
70. Santos F, Wegkamp A, de Vos WM, Smid EJ, Hugenholtz J. High-Level folate production in fermented foods by the B12 producer *Lactobacillus reuteri* JCM1112. *Applied and environmental microbiology*. 2008;74(10):3291-4.
71. Takahashi-Iniguez T, Garcia-Hernandez E, Arreguin-Espinosa R, Flores ME. Role of vitamin B12 on methylmalonyl-CoA mutase activity. *Journal of Zhejiang University Science B*. 2012;13(6):423-37.
72. Swanson DA, Liu ML, Baker PJ, Garrett L, Stitzel M, Wu J, et al. Targeted disruption of the methionine synthase gene in mice. *Molecular and cellular biology*. 2001;21(4):1058-65.
73. Mach N, Clark A. Micronutrient Deficiencies and the Human Gut Microbiota. *Trends in microbiology*. 2017;25(8):607-10.
74. Tehlivets O, Malanovic N, Visram M, Pavkov-Keller T, Keller W. S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase and methylation disorders: yeast as a model system. *Biochimica et biophysica acta*. 2013;1832(1):204-15.
75. Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*. 2006;312(5778):1355-9.

76. Amorim Franco TM, Blanchard JS. Bacterial Branched-Chain Amino Acid Biosynthesis: Structures, Mechanisms, and Drugability. *Biochemistry*. 2017;56(44):5849-65.
77. D'Souza G, Waschina S, Pande S, Bohl K, Kaleta C, Kost C. Less is more: selective advantages can explain the prevalent loss of biosynthetic genes in bacteria. *Evolution; international journal of organic evolution*. 2014;68(9):2559-70.
78. Smith NW, Shorten PR, Altermann E, Roy NC, McNabb WC. The Classification and Evolution of Bacterial Cross-Feeding. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 2019;7.
79. Morgan N. Price GMZ, Adam M. Deutschbauer, Jennifer V. Kuehl, Ryan A. Melnyk, Judy D. Wall, Adam P. Arkin. Filling gaps in bacterial amino acid biosynthesis pathways with high-throughput genetics. *PLOS Genetics* 2018.
80. Alex Mira HOaNAM. Deletional bias and the evolution of bacterial genomes. *TRENDS in Genetics*. 2001;17(10).
81. Ferrario C, Duranti S, Milani C, Mancabelli L, Lugli GA, Turrone F, et al. Exploring Amino Acid Auxotrophy in *Bifidobacterium bifidum* PRL2010. *Frontiers in microbiology*. 2015;6:1331.
82. Even S, Burguiere P, Auger S, Soutourina O, Danchin A, Martin-Verstraete I. Global control of cysteine metabolism by CymR in *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*. 2006;188(6):2184-97.
83. van der Kaaij H, Desiere F, Mollet B, Germond JE. L-alanine auxotrophy of *Lactobacillus johnsonii* as demonstrated by physiological, genomic, and gene complementation approaches. *Applied and environmental microbiology*. 2004;70(3):1869-73.
84. Martinez-Augustin JJBaO. Role and Function of Nucleotides in Infant Nutrition. *Nestle Nutrition Workshop Series*. 2002;47.
85. Ramazzina IF, Claudia; Secchi, Andrea; Berni, Rodolfo; Percudani, Riccardo. Completing the uric acid degradation pathway through phylogenetic comparison of whole genomes. *Nature chemical biology*. 2006/04/01;2.
86. Werner AK, Romeis T, Witte CP. Ureide catabolism in *Arabidopsis thaliana* and *Escherichia coli*. *Nature chemical biology*. 2010;6(1):19-21.
87. Ramazzina I, Costa R, Cendron L, Berni R, Peracchi A, Zanotti G, et al. An aminotransferase branch point connects purine catabolism to amino acid recycling. *Nature chemical biology*. 2010;6(11):801-6.

88. Vieira AT, Macia L, Galvao I, Martins FS, Canesso MC, Amaral FA, et al. A Role for Gut Microbiota and the Metabolite-Sensing Receptor GPR43 in a Murine Model of Gout. *Arthritis & rheumatology*. 2015;67(6):1646-56.
89. Garcia-Arroyo FE, Gonzaga G, Munoz-Jimenez I, Blas-Marron MG, Silverio O, Tapia E, et al. Probiotic supplements prevented oxonic acid-induced hyperuricemia and renal damage. *PloS one*. 2018;13(8):e0202901.
90. Wang H, Mei L, Deng Y, Liu Y, Wei X, Liu M, et al. *Lactobacillus brevis* DM9218 ameliorates fructose-induced hyperuricemia through inosine degradation and manipulation of intestinal dysbiosis. *Nutrition*. 2019;62:63-73.
91. Trinidad Rodríguez I, Fernández Ballart J, Cucó Pastor G, Biarnés Jordà E, Arija Val V. Validación de un cuestionario de frecuencia de consumo alimentario corto: reproducibilidad y validez. *Nutrición Hospitalaria*. 2008;23(3):242-52.
92. Pérez Lizaur AB, Palacios González B, Castro Becerra AL, Flores Galicia I. *Sistema mexicano de alimentos equivalentes*. 4a ed. México, D.F.: Fomento de Nutrición y Salud; 2014. 164 p.
93. Wu B, Roseland JM, Haytowitz DB, Pehrsson PR, Ershow AG. Availability and quality of published data on the purine content of foods, alcoholic beverages, and dietary supplements. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2019;84:103281.
94. Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*. 2018;34(17):i884-i90.
95. Zhang J, Kobert K, Flouri T, Stamatakis A. PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End reAd mergeR. *Bioinformatics*. 2014;30(5):614-20.
96. Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nature biotechnology*. 2019;37(8):852-7.
97. Amir A, McDonald D, Navas-Molina JA, Kopylova E, Morton JT, Zech Xu Z, et al. Deblur Rapidly Resolves Single-Nucleotide Community Sequence Patterns. *mSystems*. 2017;2(2).
98. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic acids research*. 2013;41(Database issue):D590-6.
99. McMurdie PJ, Holmes S. phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS one*. 2013;8(4):e61217.

100. Andersen KS, Kirkegaard RH, Karst SM, Albertsen M. 2018.
101. Wemheuer F, Taylor JA, Daniel R, Johnston E, Meinicke P, Thomas T, et al. Tax4Fun2: prediction of habitat-specific functional profiles and functional redundancy based on 16S rRNA gene sequences. *Environmental Microbiome*. 2020;15(1).
102. Parks D, Beiko R. STAMP: Statistical Analysis of Metagenomic Profiles. 2013:1-6.
103. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013;500(7464):541-6.
104. Riviere A, Selak M, Lantin D, Leroy F, De Vuyst L. Bifidobacteria and Butyrate-Producing Colon Bacteria: Importance and Strategies for Their Stimulation in the Human Gut. *Frontiers in microbiology*. 2016;7:979.
105. Devriese S, Eeckhaut V, Geirnaert A, Van den Bossche L, Hindryckx P, Van de Wiele T, et al. Reduced Mucosa-associated Butyricococcus Activity in Patients with Ulcerative Colitis Correlates with Aberrant Claudin-1 Expression. *Journal of Crohn's & colitis*. 2017;11(2):229-36.
106. Krumbeck JA, Rasmussen HE, Hutkins RW, Clarke J, Shawron K, Keshavarzian A, et al. Probiotic Bifidobacterium strains and galactooligosaccharides improve intestinal barrier function in obese adults but show no synergism when used together as synbiotics. *Microbiome*. 2018;6(1):121.
107. Liu X, Lv Q, Ren H, Gao L, Zhao P, Yang X, et al. The altered gut microbiota of high-purine-induced hyperuricemia rats and its correlation with hyperuricemia. *PeerJ*. 2020;8:e8664.
108. Lim MY, Rho M, Song YM, Lee K, Sung J, Ko G. Stability of gut enterotypes in Korean monozygotic twins and their association with biomarkers and diet. *Scientific reports*. 2014;4:7348.
109. Stoll ML, Pierce MK, Watkins JA, Zhang M, Weiss PF, Weiss JE, et al. *Akkermansia muciniphila* is permissive to arthritis in the K/BxN mouse model of arthritis. *Genes and immunity*. 2019;20(2):158-66.
110. Crovesy L, Masterson D, Rosado EL. Profile of the gut microbiota of adults with obesity: a systematic review. *European journal of clinical nutrition*. 2020.

111. Mendez-Salazar EO, Ortiz-Lopez MG, Granados-Silvestre MLA, Palacios-Gonzalez B, Menjivar M. Altered Gut Microbiota and Compositional Changes in Firmicutes and Proteobacteria in Mexican Undernourished and Obese Children. *Frontiers in microbiology*. 2018;9:2494.
112. Ravanel S, Douce R, Rébeillé F. Metabolism of Folates in Plants. 2011;59:67-106.
113. Sah S, Aluri S, Rex K, Varshney U. One-carbon metabolic pathway rewiring in *Escherichia coli* reveals an evolutionary advantage of 10-formyltetrahydrofolate synthetase (Fhs) in survival under hypoxia. *Journal of bacteriology*. 2015;197(4):717-26.
114. Wang W, Wu Z, Lin G, Hu S, Wang B, Dai Z, et al. Glycine stimulates protein synthesis and inhibits oxidative stress in pig small intestinal epithelial cells. *The Journal of nutrition*. 2014;144(10):1540-8.
115. Ling Han MD, Sven-Olof Enfors, Lena Haggstrom Effect of glycine on the cell yield and growth rate of *Escherichia coli*: evidence for cell-density-dependent glycine degradation as determined by ¹³C NMR spectroscopy. *Journal of Biotechnology* 2002;92:237-49.
116. Fredrik Backhed REL, Justin L. Sonnenburg, Daniel A. Peterson, Jeffrey I. Gordon. Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine. *Science*. 2005;307.
117. Goro KIKUCHI YM, Tadashi YOSHIDA and Koichi HIRAGA. Glycine cleavage system: reaction mechanism, physiological significance, and hyperglycinemia. *Proc Jpn Acad, Ser* 2008;84:246-63.
118. Takeaki Tezuka YO. Two Glycine Riboswitches Activate the Glycine Cleavage System Essential for Glycine Detoxification in *Streptomyces griseus*. *Journal of bacteriology*. 2014;196(7):1369 –76.
119. Mahbub MH, Yamaguchi N, Takahashi H, Hase R, Amano H, Kobayashi-Miura M, et al. Alteration in plasma free amino acid levels and its association with gout. *Environmental health and preventive medicine*. 2017;22(1):7.
120. van der Wielen N, Moughan PJ, Mensink M. Amino Acid Absorption in the Large Intestine of Humans and Porcine Models. *The Journal of nutrition*. 2017;147(8):1493-8.
121. Broer S, Fairweather SJ. Amino Acid Transport Across the Mammalian Intestine. *Comprehensive Physiology*. 2018;9(1):343-73.
122. Hirst AHaBH. The Glycine Transporter GLYT1 in Human Intestine: Expression and Function. *Biol Pharm Bull* 2011;34:784-8.

123. Tadashi Nakai NM, Noriko Nakagawa, Seiki Kuramitsu, Ryoji Masui, Nobuo Kamiya. Structure of P-protein of the glycine cleavage system: implications for nonketotic hyperglycinemia. *The EMBO Journal* 2005;24:1523-36.
124. Yishai O, Bouzon M, Doring V, Bar-Even A. In Vivo Assimilation of One-Carbon via a Synthetic Reductive Glycine Pathway in *Escherichia coli*. *ACS synthetic biology*. 2018;7(9):2023-8.
125. Kopečna M, Blaschke H, Kopečný D, Vigouroux A, Koncítiková R, Novák O, et al. Structure and function of nucleoside hydrolases from *Physcomitrella patens* and maize catalyzing the hydrolysis of purine, pyrimidine, and cytokinin ribosides. *Plant physiology*. 2013;163(4):1568-83.
126. Ogawa J. Analysis of Microbial Purine Metabolism and Its Application for Hyperuricemia Prevention. Division of Applied Life Sciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University. 2006:32-4.
127. Xi Y, Yan J, Li M, Ying S, Shi Z. Gut microbiota dysbiosis increases the risk of visceral gout in goslings through translocation of gut-derived lipopolysaccharide. *Poultry science*. 2019;98(11):5361-73.
128. Shin NR, Whon TW, Bae JW. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends in biotechnology*. 2015;33(9):496-503.
129. Wang CH, Zhang C, Xing XH. Xanthine dehydrogenase: An old enzyme with new knowledge and prospects. *Bioengineered*. 2016;7(6):395-405.
130. Xi H, Schneider BL, Reitzer L. Purine catabolism in *Escherichia coli* and function of xanthine dehydrogenase in purine salvage. *Journal of bacteriology*. 2000;182(19):5332-41.
131. Wei B, Wang S, Wang Y, Ke S, Jin W, Chen J, et al. Gut microbiota-mediated xanthine metabolism is associated with resistance to high-fat diet-induced obesity. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2020;88:108533.
132. Switzer A, Burchell L, McQuail J, Wigneshweraraj S. The adaptive response to long-term nitrogen starvation in *Escherichia coli* requires the breakdown of allantoin. *bioRxiv*. 2020:2020.03.30.016519.
133. Salway JG. The Krebs Uric Acid Cycle: A Forgotten Krebs Cycle. *Trends in biochemical sciences*. 2018;43(11):847-9.
134. Yin J, Wei Y, Liu D, Hu Y, Lu Q, Ang EL, et al. An extended bacterial reductive pyrimidine degradation pathway that enables nitrogen release from beta-alanine. *The Journal of biological chemistry*. 2019;294(43):15662-71.

135. Yang X, Yuan Y, Zhan CG, Liao F. Uricases as therapeutic agents to treat refractory gout: Current states and future directions. *Drug development research*. 2012;73(2):66-72.
136. Garud NR, Good BH, Hallatschek O, Pollard KS. Evolutionary dynamics of bacteria in the gut microbiome within and across hosts. *PLoS biology*. 2019;17(1):e3000102.
137. Didelot X, Walker AS, Peto TE, Crook DW, Wilson DJ. Within-host evolution of bacterial pathogens. *Nature reviews Microbiology*. 2016;14(3):150-62.
138. Yu Y, Liu Q, Li H, Wen C, He Z. Alterations of the Gut Microbiome Associated With the Treatment of Hyperuricaemia in Male Rats. *Frontiers in microbiology*. 2018;9:2233.
139. Kanamori T, Kanou N, Atomi H, Imanaka T. Enzymatic characterization of a prokaryotic urea carboxylase. *Journal of bacteriology*. 2004;186(9):2532-9.
140. Mora D, Arioli S. Microbial urease in health and disease. *PLoS pathogens*. 2014;10(12):e1004472.
141. Pan L, Han P, Ma S, Peng R, Wang C, Kong W, et al. Abnormal metabolism of gut microbiota reveals the possible molecular mechanism of nephropathy induced by hyperuricemia. *Acta pharmaceutica Sinica B*. 2020;10(2):249-61.
142. Julian-Santiago F, Garcia-Garcia C, Garcia-Olivera I, Goycochea-Robles MV, Pelaez-Ballestas I. Epidemiology of rheumatic diseases in Mixtec and Chontal indigenous communities in Mexico: a cross-sectional community-based study. *Clinical rheumatology*. 2016;35 Suppl 1:35-42.
143. Popkin BM. Synthesis and implications: China's nutrition transition in the context of changes across other low- and middle-income countries. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2014;15 Suppl 1:60-7.
144. Miao Z, et al. "Dietary and lifestyle changes associated with high prevalence of hyperuricemia and gout in the Shandong coastal cities of Eastern China.". *The Journal of rheumatology*. 2008;35(9):1859-64.
145. Salud Sd. 005. Gota, enfermedad crónica que afecta a tres por ciento de los mexicanos Available at: <https://www.gobmx/salud/prensa/005-gota-enfermedad-cronica-que-afecta-a-tres-por-ciento-de-los-mexicanos>. 2021.
146. Sinha T, Vich Vila A, Garmaeva S, Jankipersadsing SA, Imhann F, Collij V, et al. Analysis of 1135 gut metagenomes identifies sex-specific resistome profiles. *Gut microbes*. 2019;10(3):358-66.

147. Bhole V, de Vera M, Rahman MM, Krishnan E, Choi H. Epidemiology of gout in women: Fifty-two-year followup of a prospective cohort. *Arthritis and rheumatism*. 2010;62(4):1069-76.

14. ANEXOS

Anexo 1. Cuestionario de selección de pacientes

Folio: _____ Cuestionario para el (la) participante _____ Fecha: _____

APARTADO I. Datos generales

Nombre y apellidos: _____	
Fecha de nacimiento: _____	Edad: _____ Género: _____ Peso: _____ Estatura: _____
Lugar de Nacimiento: _____ Dirección actual: _____	
Teléfono: _____	e-mail: _____ Diagnóstico: _____

NO LLENAR	Sa	Su	P	C	SI	LS	H	O	DNAh	DNAb	RX
-----------	----	----	---	---	----	----	---	---	------	------	----

APARTADO II. Antecedentes clínicos, y familiares

Marque con una X la opción que le corresponde y en las preguntas que se indica coloque la información en la celda. Los números que aparecen entre paréntesis al lado de las opciones no significan nada, y no corresponden a una respuesta en particular, por favor sólo ignórelas.

1. ¿Le han diagnosticado Osteoartritis (o enfermedad articular degenerativa u osteoartrosis) de mano, rodilla o cadera?					
	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	Año del diagnóstico	NO LLENAR
Mano					_ _
Rodilla					_ _
Cadera					_ _
Otra:					_ _ _ _

2. ¿Le han diagnosticado gota o hiperuricemia?					
	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	Año del diagnóstico	NO LLENAR
Gota					_ _ _ _
Hiperuricemia					_ _ _ _

Si su respuesta es "Sí" para alguna de las opciones pase a la siguiente pregunta, si no pase a la pregunta número 4 al final de esta página.

3. ¿Le han detectado tofos en alguno de los siguientes sitios anatómicos?				
	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	NO LLENAR
Codo				_ _
Rodilla				_ _
Mano				_ _
Orejas				_ _
Otro:				_ _

4. ¿Ha tenido algún tipo de cirugía de reemplazo articular o colocación de prótesis como consecuencia de enfermedades reumáticas?				
	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	NO LLENAR
Mano				_ _
Rodilla				_ _
Cadera				_ _
Otra:				_ _ _ _

Anexo 1. Cuestionario de selección de pacientes...Continuación






Folio:

Cuestionario para el (la) participante

Fecha:

5. ¿Manifiesta dolor espontáneo en alguna de las siguientes articulaciones?				
	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	NO LLENAR
Muñeca				____
Dedos de las manos				____
Rodilla				____
Cadera				____
Tobillo				____
Dedos de los pies				____
Otra:				____ ____

Si su respuesta es "Sí" para alguna de las opciones pase a la siguiente pregunta, si no pase a la pregunta número 8 al final de esta página.

6. ¿De la escala de 1 al 10 que valor le pondría al dolor que siente, considerando como 10 un dolor insoportable?											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	NO LLENAR
											
Muñeca											____
Dedos de las manos											____
Rodilla											____
Cadera											____
Tobillo											____
Dedos de los pies											____
Otra articulación											____

7. ¿Desde hace cuánto tiempo manifiesta el dolor que refiere?					
	Menos de 1 mes (1)	De 1 a 6 meses (2)	De 6 meses a 1 año (3)	Más de 1 año (4)	NO LLENAR
Muñeca					____
Dedos de las manos					____
Rodilla					____
Cadera					____
Tobillo					____
Dedos de los pies					____
Otra:					____

8. ¿Tiene familiares directos con enfermedades reumáticas?					
	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	Enfermedad	NO LLENAR
Padre					____ ____
Madre					____ ____
Hermanos					____ ____
Tíos maternos					____ ____
Tíos paternos					____ ____
Abuelos maternos					____ ____
Abuelos paternos					____ ____
Hijos					____ ____

Anexo 1. Cuestionario de selección de pacientes... *Continuación*

Folio:

Cuestionario para el (la) participante

Fecha:

9. ¿Ha tomado medicamentos para el dolor o inflamación (analgésicos o antiinflamatorios) como tratamiento de enfermedades reumáticas?				
	Sí (1)	No (0)	Dosis	NO LLENAR
Paracetamol				_ _ _ _
Ibuprofeno				_ _ _ _
Naproxeno				_ _ _ _
Diclofenaco				_ _ _ _
Ketorolaco				_ _ _ _
Piroxicam				_ _ _ _
Meloxicam				_ _ _ _
Indometacina				_ _ _ _
Colchicina				_ _ _ _
Metotrexato				_ _ _ _
Glucocorticoides (prednisona, cortisona, etc)				_ _ _ _
Otro:				_ _ _ _

10. ¿Toma algún medicamento para la gota o hiperuricemia?				
	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	NO LLENAR
Alopurinol				_ _
Lesinurad				_ _
Otro:				_ _

11. ¿En los últimos tres meses ha tomado antibiótico?					
Nombre del Antibiótico	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	Fecha de la última toma	NO LLENAR
					_ _ _ _
					_ _ _ _
					_ _ _ _

12. ¿Recientemente ha tomado algún antiparasitario?					
Nombre del Medicamento	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	Fecha de la última toma	NO LLENAR
Metronidazol					_ _ _ _
Albendazol					_ _ _ _
Mebendazol					_ _ _ _

13. ¿Recientemente ha tomado algún medicamento que le ayude a ir al baño (laxante)?					
Nombre del Medicamento	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	Fecha de la última toma	NO LLENAR
					_ _ _ _
					_ _ _ _
					_ _ _ _

14. ¿Usted fuma actualmente?			
Sí (1)	No (0)	Actualmente no, pero fumaba anteriormente (2)	NO LLENAR
			_ _

Si su respuesta es "Sí" pase a la siguiente pregunta, si no pase a la pregunta número 17 en la siguiente página.

15. ¿Con que frecuencia fuma?			
-------------------------------	--	--	--

Anexo 1. Cuestionario de selección de pacientes... *Continuación*

Folio:

Cuestionario para el (la) participante

Fecha:

Poco frecuente (1)	Muy frecuente (2)	Cantidad de cigarrillos a la semana	NO LLENAR
			_ _ _

16. ¿Desde hace cuánto fuma?	NO LLENAR
	_ _

17. ¿En algún momento un médico le ha diagnosticado algún padecimiento gastrointestinal?				
	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	NO LLENAR
Colitis				_ _
Gastritis				_ _
Reflujo				_ _
Síndrome de colon irritable				_ _
Otro:				_ _ _

18. ¿En algún momento un médico le ha diagnosticado alguna de las siguientes enfermedades?				
	Sí (1)	No (0)	No sé (.)	NO LLENAR
Diabetes tipo 2				_ _
Síndrome Metabólico				_ _
Hipertensión arterial				_ _
Dislipidemia				_ _
Otro:				_ _ _

19. ¿Ha tenido diarrea en las últimas tres semanas?				
Fecha cuando la tuvo	Sí (1)	No (0)	No recuerdo (.)	NO LLENAR
				_ _ _

20. ¿Tomó algún medicamento por la diarrea?				
Medicamento	Sí (1)	No (0)	No recuerdo (.)	NO LLENAR
Peptobismol				_ _ _
Tredda				_ _ _
Imodium				_ _ _
Lomotil				_ _ _
Otro:				_ _ _

Si su respuesta es "Sí" pase a la siguiente pregunta, si no pase a la pregunta número 21

21. ¿Cómo nació?			
Parto Natural (1)	Cesárea (2)	No sé (.)	NO LLENAR
			_ _

COMENTARIOS:

Anexo 2. Cuestionario de frecuencia de alimentos

Folio: Cuestionario para el (la) participante | Fecha: _____

APARTADO III. Frecuencia de consumo de alimentos

PIENSA EN QUE ALIMENTOS COMISTE EL ÚLTIMO AÑO (DIGAMOS DESDE JUNIO DEL AÑO PASADO). ¿PODRÍAS DECIR CON QUE FRECUENCIA CONSUMISTE LOS SIGUIENTES ALIMENTOS? TENGA EN CUENTA LAS VECES QUE LO TOMA SOLO Y LAS QUE LO AÑADE A OTROS ALIMENTOS O PLATOS.

Marque con una X la opción que le corresponde. No hay respuestas buenas o malas, sólo importa conocer lo que comes. Por favor, cualquier duda pregunta al encuestador.

Alimento	Nunca (0)	< 1 vez al mes (11)	1 vez al mes (8)	2 veces al mes (9)	3 veces al mes (10)	1 vez por semana (1)	2 veces por semana (2)	3 veces por semana (3)	4 veces por semana (4)	5 veces por semana (5)	Diario (7)	NO LLENAR
Leche semidescremada (1 vaso o taza, 200mL)												<input type="checkbox"/>
Leche light (1 vaso o taza, 200mL)												<input type="checkbox"/>
Leche deslactosada (1 vaso o taza, 200mL)												<input type="checkbox"/>
Leche entera (1 vaso o taza, 200mL)												<input type="checkbox"/>
Yogurt (uno, 125 gr)												<input type="checkbox"/>
Cereal (Zucaritas, Chocokrispis, All-Bran, avena) (1 taza)												<input type="checkbox"/>
Galletas tipo "María" (sin relleno) (1 galleta)												<input type="checkbox"/>
Galletas tipo "Emperador" (con relleno) (1 galleta doble)												<input type="checkbox"/>
Pan dulce (1 pieza)												<input type="checkbox"/>
Pan blanco (Bolillo, Telera, Cuernito) (1 pieza)												<input type="checkbox"/>
Café (1 vaso o taza, 200mL)												<input type="checkbox"/>
Ensalada fresca (lechuga, jitomate, pepino) (1 plato)												<input type="checkbox"/>
Espinacas o acelgas (1 plato)												<input type="checkbox"/>
Verdura de guarnición (brócoli, chayote, coliflor) (1 taza)												<input type="checkbox"/>
Papas al horno, fritas o hervidas (1 ración, 100gr)												<input type="checkbox"/>
Legumbres (frijol, lentejas, garbanzos, habas) (1 plato)												<input type="checkbox"/>
Arroz (1 taza)												<input type="checkbox"/>
Pasta (fideos, espaguetis, coditos, etc) (1 plato)												<input type="checkbox"/>
Sopas y cremas (1 plato)												<input type="checkbox"/>
Caldos (1 plato)												<input type="checkbox"/>
Tortillas de maíz (1 tortilla)												<input type="checkbox"/>
Tortillas de harina (1 tortilla)												<input type="checkbox"/>

Anexo 2. Cuestionario de frecuencia de alimentos... *Continuación*

Folio: _____ Cuestionario para el (la) participante _____ Fecha: _____

Alimento	Nunca (0)	< 1 vez al mes (11)	1 vez al mes (8)	2 veces al mes (9)	3 veces al mes (10)	1 vez por semana (1)	2 veces por semana (2)	3 veces por semana (3)	4 veces por semana (4)	5 veces por semana (5)	Diario (7)	NO LLENAR
Huevo (1 huevo)												
Pollo o pavo (1 pieza)												
Carne roja (1 pieza)												
Longaniza, carne molida (1 ración 50gr)												
Pescado blanco (blanco del Nilo, mero) (1 filete)												
Pescado azul (atún, sardina, salmón) (1 lata)												
Mariscos (camarón, calamares, pulpo, etc) (1 ración, 100gr)												
Croquetas, empanadas o pizza (1 pieza)												
Antojitos mexicanos (quesadillas, sopes, etc) (1 pieza)												
Pan de caja (Pan Bimbo) (1 rebanada)												
Jamón de pechuga de pavo (1 rebanada delgada)												
Jamón de pierna de cerdo (1 rebanada delgada)												
Salchichas o paté (una salchicha o 50g de paté)												
Queso Blanco (Panela, Oaxaca, cottage, etc) (50 gr)												
Quesos amarillos (Manchego, Gouda, etc) (1 trozo 50g)												
Mantequilla añadida a la comida o pan (1 cucharada)												
Margarina añadida a la comida o pan (1 cucharada)												
Aceite de maíz (1 cucharada)												
Aceite de oliva (1 cucharada)												
Frutas cítricas (naranja, toronja, mandarina) (1 pieza)												
Otras frutas (manzana, plátano, pera, papaya, etc) (1 pieza)												
Frutas en almíbar (2 mitades o rodajas)												
Jugos de fruta natural (un vaso, 250 mL)												
Jugos de fruta envasados (Jumex, del Valle, etc) (1 lata, 200 mL)												
Cacahuates almendras o nueces (1 bolsa pequeña)												
Gelatina												
Natillas o Flan (1 pequeño)												
Pasteles de crema o chocolate (Gansitos, Pingüinos, etc) (1 pieza)												

Anexo 2. Cuestionario de frecuencia de frecuencia de alimentos... *Continuación*

Folio: Cuestionario para el (la) participante | Fecha: _____

Alimento	Nunca (0)	< 1 vez al mes (11)	1 vez al mes (8)	2 veces al mes (9)	3 veces al mes (10)	1 vez por semana (1)	2 veces por semana (2)	3 veces por semana (3)	4 veces por semana (4)	5 veces por semana (5)	Diario (7)	NO LLENAR
Papas fritas (Sabritas, Barcel) (1 bolsa pequeña)												_
Golosinas (gomitas, caramelos, paletas de caramelo, etc) (1 pieza)												_
Tabletas de chocolate ("Snickers", "Hershey", Milky way) (1 pieza)												_
Helados o nieves (un vaso pequeño, "sencillo")												_
Refresco (1 lata 355 mL)												_
Refresco light (1 lata 355 mL)												_
Vino (tinto, blanco, sangría, clericot) (1 vaso, 125 mL)												_
Cerveza (1 botella 355ml)												_
Bebidas destiladas (whisky, tequila, ron, etc) (1 copa, 50mL)												_

OBSERVACIONES:
