



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

**EFFECTOS DEL CONSUMO DE EDULCORANTES CALÓRICOS
E HIPOCALÓRICOS EN UN CORTO Y MEDIANO PLAZO
SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL Y SALUD DE RATAS Y
RATONES**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA

JORGE ALBERTO REYNOSO AMADO



CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO

2022



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: M. en C. Rolando Salvador García Gómez
VOCAL: Dra. Ing. Marisela Bernal González
SECRETARIO: Q. F. B. Juan Manuel Díaz Álvarez
1^{er} SUPLENTE: M. en A. I. Landy Irene Ramírez Burgos
2^o SUPLENTE: Dr.-Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

SITIO DONDE SE REALIZÓ EL TEMA

Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQAyQA), del Conjunto E de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM, Ciudad de México

ASESOR DEL TEMA

M. en C. Rolando Salvador García Gómez

SUPERVISOR TÉCNICO

Dr. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

SUSTENTANTE

Jorge Alberto Reynoso Amado

Declaratoria

“Declaro conocer el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, plasmado en la Legislación Universitaria. Con base en las definiciones de integridad y honestidad ahí especificadas, aseguro mediante mi firma al calce que el presente trabajo es original y enteramente de mi autoría. Todas las citas de, o referencias a, las obras de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante recursos editoriales convencionales”

Jorge Alberto Reynoso Amado

RECONOCIMIENTOS

A la Biblioteca Digital de la UNAM (BiDi-UNAM) por su extenso contenido digital, el cual fue de gran ayuda para la realización de este Trabajo Monográfico de Actualización.

Al proyecto *Sci-Hub*, fundado por Alexandra Elbakyan, por poner el conocimiento científico al alcance de todos.

Se agradece al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), clave IN217619.

Al M. en C. Rolando Salvador García Gómez por sus consejos, orientación y apoyo brindado durante la Estancia Estudiantil, así como en la revisión y corrección del presente Trabajo Monográfico de Actualización.

A la Dr.-Ing. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa, por su ayuda en la Supervisión Técnica del presente trabajo, así como en la revisión y corrección del mismo incluyendo algunas de las definiciones que permitieron mejorar la calidad del documento desde el punto de vista semántico y de conceptos básicos.

Al Dr. M. en C. Q.A. Samuel Mendoza Pérez, ya que sus recomendaciones y observaciones ayudaron a la realización y corrección de este Trabajo Monográfico de Actualización.

A todo el personal académico y administrativo de los Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQAYQA).

Índice

	Página
Declaratoria	iii
Reconocimientos	iv
Glosario de términos	1
Resumen	10
Capítulo 1 Planteamiento del problema	11
1.1. Introducción	11
1.2. Hipótesis de trabajo	12
1.3. Objetivo general	12
1.4. Objetivos específicos	13
Capítulo 2 Marco teórico	14
2.1. Gusto dulce y enfermedades no transmisibles	14
2.2. Microbiota intestinal	16
Capítulo 3 Metodología	19
Capítulo 4 Resultados y discusión	20
4.1. Generalidades de los edulcorantes y uso tecnológico	20
4.1.1. Receptores de sabor dulce y edulcorantes	22
4.2. Empleo de animales modelo para estudios sobre metabolismo	24
4.2.1. Metabolismo de edulcorantes calóricos e hipocalóricos	27
4.3. Generalidades de la microbiota intestinal	31
4.4. Colonización temprana de la microbiota intestinal	34
4.5. Caracterización de la microbiota intestinal	40
4.5.1. <i>Bacteroidetes</i>	43
4.5.2. <i>Firmicutes</i>	44
4.5.3. <i>Actinobacteria</i>	47

	Página
4.5.4. <i>Proteobacteria</i>	49
4.6. Eubiosis y disbiosis de la microbiota intestinal	52
4.6.1. Dieta y disbiosis	54
4.7. Microbiota intestinal y edulcorantes	58
4.8. Microbiota intestinal y estado fisiológico	65
4.8.1. Exceso de masa corporal y edulcorantes	71
4.8.2. Diabetes y edulcorantes	75
4.9. Otras implicaciones derivadas del suministro de edulcorantes en ratas y ratones	78
Capítulo 5 Conclusiones y recomendaciones	82
5.1. Conclusiones	82
5.2. Recomendaciones	85
Anexo I. Resultados del consumo de edulcorantes en ratas y ratones	88
Referencias bibliográficas	92

Listado de Tablas y Figuras

	Página
Tabla 1. Poder edulcorante y valores de IDA de los edulcorantes artificiales y extraídos químicamente más comunes (Carocho et al., 2017)	21
Figura 1. Representación de las interacciones entre protón donador (A-H) y (H-A), y proteínas receptoras del gusto dulce (B) (Shallenberger, 1996)	23
Figura 2. Sitios de interacción de algunos edulcorantes con los receptores de gusto dulce (Rother et al., 2018)	24
Figura 3. Tracto gastrointestinal del ratón (Navarro et al., 2017)	25
Figura 4. Composición de la microbiota intestinal presente en	35

	Página
	recién nacidos de acuerdo con su forma de nacimiento (Korpela et al., 2020)
Figura 5.	Fuentes predichas de la microbiota fetal murina (Younge et al., 2019) 38
Figura 6.	Bacterias cultivadas a partir del intestino fetal de ratones, la placenta y el útero de acuerdo con la gestación (Modificada de Younge et al., 2019) 39
Figura 7.	Géneros y niveles microbianos más abundantes en el tracto gastrointestinal humano (Álvarez et al., 2021) 42
Figura 8.	A y B, <i>Bacteroides fragilis</i> bajo el microscopio. C y D, <i>Prevotella intermedia</i> bajo el microscopio (Zhou y Li, 2015) 44
Figura 9.	(A) <i>Clostridium difficile</i> , (B) <i>Bacillus</i> sp., (C) <i>Blautia brookingsii</i> , (D) <i>Faecalibacterium prausnitzii</i> , (E) <i>Ruminococcus flavefaciens</i> y (F) <i>Lactobacillus acidophilus</i> (Ghimire et al., 2020; Miquel et al., 2013; Smits et al., 2016; Villareal-Delgado et al., 2018; Vodovnik et al., 2013; Zhou y Li, 2015) 45
Figura 10.	(A) Tinción de Gram de <i>Bifidobacterium dentium</i> , (B) <i>Propionibacterium acnes</i> , (C) Tinción de Gram de <i>C. pseudodiphtheriticum</i> (Mühlhauser, 2019; Zhou y Li, 2015) 48
Figura 11.	(A) <i>E. coli</i> sp., (B) Tinción de Gram para <i>E. coli</i> , al ser una bacteria Gram negativa se tiñe de rosa (Zhou y Li, 2015) 50
Figura 12.	Eubiosis y disbiosis de la microbiota intestinal (Autoría personal) 53
Figura 13.	Macronutrientes y su efecto en la microbiota intestinal (Ramos y Martín, 2021) 54
Figura 14.	Absorción de algunos edulcorantes en el intestino delgado (ID), intestino grueso (IG) y heces, cantidades absolutas (A) y fraccionarias (B) (Di Rienzi y Britton, 2020) 59
Figura 15.	Crecimiento de <i>E. coli</i> HB101 en medio con sucralosa (Wang et al., 2018) 60

	Página
Figura 16. Medios de cultivo adicionados con acesulfame K, sacarina, sacarosa y cloruro de sodio. A) Crecimiento de <i>E. coli</i> HB 101 y B) Crecimiento de <i>E. coli</i> K-12, luego de haber sido incubados a 37°C / 5 h /220 rpm, medio líquido LB (Wang et al., 2018)	61
Figura 17. Crecimiento de <i>E. coli</i> HB101 y <i>E. coli</i> K-12 en medios con rebaudiósido A (Wang et al., 2018)	62
Figura 18. Cambios en la microbiota intestinal provocados por el consumo de edulcorantes (Di Renzi y Britton, 2020)	63
Figura 19. Capas del intestino (Navarro et al., 2017)	68
Figura 20. Presencia de edulcorantes en diversos fluidos, heces, leche materna y útero (Palatnik et al., 2020)	79
Figura 21. Imágenes obtenidas del ensayo <i>TUNEL</i> por inmunofluorescencia (Jiang et al., 2020)	80
Figura 22. Orígenes de la disbiosis y eubiosis en la microbiota intestinal, metabolitos producto de la disbiosis y enfermedades relacionadas con la disbiosis (Levy et al., 2017)	81

Nota: Esta investigación bibliográfica usa el punto decimal (DOF, 2009) y los guarismos junto a los °C y el signo %

Glosario de términos

Agar MRS: Medio de cultivo usado para el aislamiento y cuenta en placa de lactobacilos y otras especies de bacterias ácido lácticas

AGCC: Ácidos grasos de cadena corta. Este tipo de compuestos son metabolitos de la biotransformación de carbohidratos, los cuales llegan hasta el intestino y son usados como sustrato por diversas bacterias

Agente bacteriostático: Compuesto capaz de inhibir el crecimiento de ciertas bacterias sin destruirlas o eliminar las bacterias ya existentes

Asumir: Hacerse cargo, responsabilizarse de algo, aceptarlo (dle.rae.es)

Bacterias Gram negativas (G-): Bacterias que poseen una capa delgada de peptidoglicano, con membrana lipídica externa. Después de realizar una tinción de Gram el resultado son bacterias de color rosa al microscopio

Bacterias Gram positivas (G+): Bacterias que poseen una capa gruesa de peptidoglicano, carecen de membrana lipídica en su exterior. Después de realizar una tinción de Gram el resultado son bacterias de color morado al microscopio

CCK: siglas en inglés para colecistoquinina

Células apoptóticas: Células biológicamente programadas para morir. En este proceso la célula se prepara para ser eliminada, este proceso ocurre de forma ordenada y se diferencia de la necrosis; la apoptosis ocurre para renovar células, eliminar células innecesarias o prevenir cáncer, mientras que la necrosis generalmente ocurre bajo condiciones de daño celular provocado por diversos agentes externos

Células caliciformes: Células especializadas en la secreción de moco, formado principalmente de mucina, el cual protege y lubrica el epitelio intestinal

Células de Paneth: Células epiteliales situadas en las criptas intestinales, se encuentran principalmente en el intestino delgado, cumplen con la función de secretar sustancias antibacterianas hacia el interior del epitelio intestinal

Células enteroendocrinas: Células especializadas en la secreción de hormonas intestinales como la gastrina, secretina y colecistocinina

Células M: Células (enterocitos) especializadas en captar antígenos presentes en el epitelio intestinal

Células T: Células del sistema inmunológico formadas a partir de células madre presentes en la médula ósea, cumplen la función de protección contra infecciones, identificación y eliminación de agentes patógenos. También se conocen como linfocitos T o timocitos

CU: Colitis ulcerosa, enfermedad intestinal inflamatoria crónica caracterizada por el desarrollo de úlceras e inflamación del intestino grueso

Diafonía: Según el diccionario de la lengua española: 1. Telecomunicaciones. Perturbación electromagnética producida en un canal de comunicación por el acoplamiento de éste con otro u otros vecinos. En biología, la diafonía se refiere a casos en los que uno o más componentes de una vía de transducción de señales afecta a otras (hmong.es/Wikipedia)

Dieta correcta: Régimen alimenticio que se caracteriza por ser completo, equilibrado, inocuo, suficiente, variado y adecuado. También puede integrar otros aspectos como los factores culturales, ambientales, individuales, económicos, geográficos y la disposición de alimentos

Disbiosis: Condición en donde la microbiota intestinal se encuentra en un desequilibrio en cuanto a la relación de bacterias probióticas y bacterias patógenas. Generalmente se considera un estado indeseable y puede ser influenciado por diversas causas como la dieta y el uso de antibióticos. El fenómeno opuesto es la eubiosis

EC: Enfermedad de Crohn. Enfermedad intestinal inflamatoria del tracto gastrointestinal. A diferencia de la colitis ulcerosa (CU), esta enfermedad es capaz de provocar inflamación en cualquier parte del tracto gastrointestinal, además de fístulas, dolor abdominal, diarrea grave, fatiga, pérdida de masa corporal y deficiencia en la absorción de nutrientes

Edulcorante: Cualquier sustancia que al entrar en contacto con los receptores de sabor dulce en las papilas gustativas desencadena una señal que es traducida como gusto dulce en el cerebro

EHGNA: Enfermedad del hígado graso no alcohólico

EHNA: Esteatohepatitis no alcohólica

EII: Enfermedad inflamatoria intestinal, caracterizada por trastornos inflamatorios crónicos como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa

Enterocito: Células epiteliales presentes en el intestino delgado y en el grueso, siendo más abundantes en el intestino delgado; entre las funciones que realiza se encuentra la absorción de diversos nutrientes, transporte de agua, transporte de electrolitos y secreción de algunos compuestos hacia el epitelio intestinal

Epitelio columnar simple: Capa de células que en el intestino se encuentra formada principalmente de enterocitos

Especie: Categoría taxonómica establecida debajo del género, es la unidad básica de clasificación biológica

Eubiosis: Condición en donde la microbiota intestinal se encuentra en un equilibrio en cuanto a la relación de bacterias probióticas y patógenas. Generalmente, se considera el estado deseado; en este estado la microbiota alcanza su máxima complejidad en términos de riqueza y diversidad bacterianas

FFAR2 (*Free Fatty Acid Receptor 2*, por sus siglas en inglés): Receptor de ácidos grasos libres-2

Filo: Categoría taxonómica establecida entre el reino y la clase

Gen *Tas1R2*: Gen encargado de la codificación de la subunidad T1R2

Género: Categoría taxonómica establecida entre la familia y la especie, un género puede dividirse en varias especies

GLP-1: Péptido similar al glucagón-1, esta hormona es excretada en el intestino y es la encargada del control de la concentración de glucosa en sangre, también desempeña otras funciones como la homeostasis luego de la absorción de nutrientes

Glúcidos versus “azúcares”: La palabra glúcidos viene de glucosa y hace referencia a aquellos carbohidratos que tienen una o varias moléculas de glucosa o compuestos isoméricos como la lactosa y fructosa; la glucosa y la fructosa comparten la misma fórmula molecular pero diferente forma estructural. Por otro lado, la palabra “azúcares” se usó como un ardid de la industria alimentaria para confundir las mieles fructosadas de maíz con la sacarosa. La palabra “azúcares” no existe en el diccionario de la lengua española. La palabra azúcar hace

referencia a la sacarosa (diglúcido) compuesto por una molécula de glucosa y una molécula de fructosa

GRAS (*Generally Recognized As Safe*, por sus siglas en inglés): Aditivo generalmente reconocido como seguro

IDA: La Ingesta Diaria Admisible es la cantidad de una sustancia que se puede consumir diariamente durante toda la vida sin provocar daños en la salud de quien la ingiere, generalmente se relaciona con aditivos alimentarios y se mide en miligramos de sustancia ingerida por kilogramo de masa corporal por día de consumo

IFN- γ /IL-4: Interferón- γ /Interleucina 4

LB: Medio Lauria-Bernati (Shahriar et al., 2020)

Lámina propia: Capa delgada de tejido conectivo, usualmente se encuentra debajo de tejidos que se encuentra expuesto hacia el ambiente externo como el tracto intestinal, boca, garganta y cuello uterino

Leptina: Hormona encargada de regular el apetito, su principal función es inhibir la ingesta de alimentos y regular la masa corporal mediante el gasto energético, es secretada por el tejido adiposo

Ligandos *AHR*: Receptor de hidrocarburo de arilo

MALDI-TOF MS (*Matrix-Assisted Laser Desorption Ionisation-Time Of Flight Mass Spectrometry*, por sus siglas en inglés): Espectrometría de masas de tiempo de vuelo de ionización por desorción láser asistida por matriz

Masa: Cantidad de materia que posee un cuerpo. La masa es una propiedad extensiva de la materia y su unidad de medida es el kilogramo (kg). Por confusión se usa la palabra peso en vez de masa

Masa corporal: Cantidad de materia que posee un individuo medida en kilogramos (kg)

Metabolito: Cualquier sustancia resultante del metabolismo, se puede dividir en dos tipos; metabolito primario si cumple con las funciones vitales del organismo y metabolito secundario si su función no es esencial para desarrollar las funciones vitales de un organismo

Microbioma: Conjunto de microorganismos que habitan un hábitat en común. Generalmente se refiere al microbioma como el conjunto de microorganismos y a su material genético así como a su entorno

Microbiota: Conjunto de microorganismos vivos (bacterias, hongos) que habitan en simbiosis en diversas partes del cuerpo como es el tracto gastrointestinal, tracto urogenital, piel, etc.

OTU (*Operational Taxonomic Unit*, por sus siglas en inglés): Unidad taxonómica operativa. Unidad seleccionada para fines particulares, la cual depende del objetivo del estudio en cuestión

Patrones moleculares asociados a patógenos (*PAMPs*, por sus siglas en inglés): Moléculas específicas sintetizadas por la mayoría de los microorganismos patógenos para su supervivencia; estas moléculas son reconocidas por biosensores del sistema inmunológico conocidos como receptores de reconocimiento de patrones (*PRRs*, por sus siglas en inglés)

PCR (Polymerase Chain Reaction, por sus siglas en inglés): Reacción en cadena de la polimerasa. Técnica molecular capaz de copiar millones de veces un fragmento de material genético en específico

Péptido PYY: Hormona anorexigénica secretada en el intestino. La función principal de esta hormona es inhibir la motilidad gástrica e incrementar la absorción de agua y electrolitos en el intestino grueso

Peso: Fuerza con la que la gravedad atrae un objeto hacia el centro de la Tierra o de cualquier astro), su unidad de medida es el Newton (N). El peso depende directamente de la masa del objeto; a mayor masa, mayor peso y viceversa

Pleomórfico: Que presenta diversas formas

Posbiótico: Compuestos que al ser ingeridos ayudan al crecimiento y desarrollo de la microbiota intestinal, a diferencia de los prebióticos, este tipo de compuestos generalmente son metabolitos producidos de manera natural por la microbiota intestinal

Prebiótico: Compuestos capaces de mejorar el crecimiento y desarrollo de microorganismos probióticos, generalmente, este tipo de compuestos son fibras vegetales, las cuales sirven de sustrato para los microorganismos probióticos

Probiótico: Microorganismo vivo que al ser ingerido en las cantidades correctas es capaz de ayudar a mantener o mejorar la homeostasis del huésped

Quorum sensing: Comunicación celular que permite a los microorganismos conocer la densidad de la población que los rodea, expresando distintos genes para desarrollar respuestas concretas, coordinadas y de forma simultánea (Bian et al., 2017)

Receptores de reconocimiento de patrones (*PRRs*, por sus siglas en inglés): Biosensores del sistema inmunológico (respuesta inmune innata) capaces de reconocer secuencias específicas de moléculas indispensables para la supervivencia de microorganismos patógenos conocidos como patrones moleculares asociados a patógenos (*PAMPs*, por sus siglas en inglés)

SII: Síndrome del intestino irritable, trastorno caracterizado por cólicos, dolor y distensión abdominal, gases, diarrea y estreñimiento

Simbiosis: Asociación entre organismos de especies diferentes en donde ambas partes se benefician una de la otra sin verse afectadas; generalmente, esta relación sirve para obtener alimento y desempeñar sus funciones vitales

Simbiótico: Alimentos que en su formulación incluyen microorganismos probióticos y compuestos prebióticos

Suponer: Considerar como cierto o real algo a partir de los indicios que se tienen (del.rae.es)

TMAO (*Trimethylamine N-Oxide*, por sus siglas en inglés): N-óxido de trimetilamina

TMF: Trasplante de microbiota fecal. Este procedimiento generalmente se hace para disminuir la disbiosis provocada por el uso de antibióticos, de esta manera se favorece el desarrollo de una microbiota intestinal sana y se recupera el estado de eubiosis

TNF- α /IL-4: Factor de necrosis tumoral α /Interleucina 4

TUNEL (Terminal Transferase-Mediated dUTP-Biotin Nick End Labeling, por sus siglas en inglés): Ensayo generalmente usado para detectar células apoptóticas; este tipo de ensayo suele usarse para detectar la toxicidad de un fármaco

Túnica mucosa: Capa más externa de los intestinos delgado y grueso, esta capa se encuentra en contacto con el epitelio intestinal

Umami: Gusto o sabor suave, relacionado con el sabor característico de la carne, mariscos y algunos alimentos fermentados como la salsa de soya. Generalmente el gusto umami se asigna a todo aquel gusto que no corresponde al gusto dulce, amargo, salado o ácido

Resumen

Los sustitutos del azúcar son algunos de los aditivos alimentarios más usados por personas que desean controlar la ingesta de glúcidos como el azúcar (sacarosa). Si bien en años pasados quizás eran considerados como una alternativa segura, la evidencia científica reciente ha mostrado que tienen efectos negativos sobre la microbiota intestinal y la salud de quienes los consumen. Recientemente han sido vinculados con padecimientos que antes parecían no tener relación alguna como autismo, asma, esclerosis múltiple, aterosclerosis, síndrome metabólico y diabetes *mellitus* tipo I. Dado el panorama anterior, el presente trabajo tiene por objetivo investigar los efectos sobre el consumo de edulcorantes calóricos e hipocalóricos a corto y mediano plazo sobre la microbiota intestinal de ratas y ratones. También busca la relación de la disbiosis con enfermedades no transmisibles como son el exceso de masa corporal, la obesidad y la diabetes *mellitus*. La metodología empleada en la presente investigación comprendió la búsqueda de libros y artículos de revisión e investigación en bases de datos abiertas y en la Biblioteca Digital de la UNAM (BIDI-UNAM). La microbiota intestinal es un sistema dinámico complejo formado por microorganismos simbióticos pertenecientes a cuatro principales filos, los cuales pueden verse afectados luego de la ingesta de edulcorantes. En eubiosis la microbiota intestinal desarrolla funciones importantes para el huésped, mientras que en condiciones alteradas (disbiosis), la microbiota intestinal es capaz de mediar el desarrollo de enfermedades. Los resultados muestran que luego del consumo de edulcorantes hipocalóricos acompañados de una dieta rica en grasas, en un corto y mediano plazos, la composición de la microbiota intestinal cambia debido a múltiples efectos provocados por dichos aditivos alimentarios, favoreciendo el desarrollo de microorganismos patógenos relacionadas con enfermedades como la obesidad, intolerancia a la glucosa y estado inflamatorio intestinal. Proporciones más grandes de Firmicutes en relación con Bacteroidetes se han vinculado con un exceso de masa corporal y obesidad. Dichas enfermedades pueden ser revertidas mediante el uso de probióticos y cambios en la dieta, principalmente aquellas dietas ricas en productos vegetales, ricas en fibra, bajas en grasa y sodio. Entre los edulcorantes capaces de provocar los efectos negativos antes mencionados se encuentran la sacarina, la sucralosa, el acesulfame de K y la stevia. Algunos de ellos son clasificados como edulcorantes sintéticos, los cuales de acuerdo con sus fabricantes, no son metabolizados. Se ha encontrado que son capaces de funcionar como agentes biostáticos provocando disbiosis, condición que lleva al huésped a un desequilibrio en su homeostasis. De esta forma se ha demostrado la capacidad de esos edulcorantes para provocar alteraciones en la microbiota intestinal y la salud de ratas y ratones. Cabe mencionar que algunos de los estudios aquí revisados muestran resultados poco claros, por lo que es necesario continuar con investigaciones a profundidad, estudiar concentraciones de edulcorantes más cercanas a las que se ingieren diariamente e incluso estudiar la interacción de estas moléculas con otros aditivos alimentarios como agentes conservadores, agentes espesantes, agentes emulsificantes y colorantes, entre otros.

Palabras clave: Edulcorantes calóricos e hipocalóricos, microbiota intestinal, salud de ratas y ratones de laboratorio

Capítulo 1

Planteamiento del problema

1.1. Introducción

Los sustitutos de azúcar se han convertido en la solución de aquellas personas que desean moderar su masa corporal atribuyéndola al consumo de azúcar, así como de personas que no pueden consumir azúcar de mesa (sacarosa) por padecer diabetes *mellitus*. El uso tecnológico de estos aditivos ha hecho posible el desarrollo de diversos productos endulzados con uno o varios sustitutos de azúcar en un mismo producto, de tal manera que los sustitutos de azúcar forman un componente más en la dieta de quien ingiere dichos alimentos.

Gracias a las nuevas técnicas moleculares y técnicas de identificación de bacterias, el día de hoy existen diversos estudios que señalan la capacidad de los sustitutos de azúcar para modificar la microbiota intestinal. Este conjunto de microorganismos se forma de aproximadamente 15,000 especies de bacterias, 270 especies de hongos, 20 especies de arqueas y 35 especies de protozoos (Wilson, 2018). La importancia de la microbiota intestinal reside en su función como un órgano metabólico y su capacidad para desempeñar importantes funciones en simbiosis con el huésped como la protección contra microorganismos patógenos, síntesis de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), degradación de carbohidratos complejos, desarrollo y maduración del sistema inmunológico, entre otros.

La evidencia científica ha demostrado la capacidad de algunos sustitutos del azúcar para alterar las proporciones de bacterias en el tracto intestinal y, con ello, las funciones metabólicas (degradación de carbohidratos complejos, excreción de enzimas) y de protección intestinal (síntesis de grasos de cadena corta, adhesión intestinal, maduración y desarrollo del sistema inmunológico).

Estudios de Suez et al. (2014), Burke y Small (2015), Daher et al. (2019), Ribeiro y Oliveira-Maia (2021) señalan la capacidad de los edulcorantes de inducir un desequilibrio en las proporciones de bacterias presentes en la microbiota

intestinal. Este desequilibrio es conocido como disbiosis, un estado en donde las proporciones de bacterias patógenas (“bacterias malas”) son mayores con respecto de las proporciones de bacterias simbióticas (“bacterias buenas”). Esta condición no solamente afecta el microbioma intestinal, sino que es capaz de provocar otros padecimientos como inducir la obesidad, generar resistencia a la insulina, alterar el funcionamiento del páncreas, ocasionar hiperglucemia e inducir la diabetes *mellitus* tipo II. Entre estas enfermedades recientemente se ha clasificado a la obesidad y la diabetes como pandemias del Siglo XXI.

Además de estas enfermedades, algunos autores como Levy et al. (2017) han identificado a la microbiota intestinal como una variable en el desarrollo de enfermedades como el asma, aterosclerosis, esclerosis múltiple, estrés, autismo y artritis reumatoide, enfermedades que en años anteriores no se habían relacionado con la microbiota intestinal.

La importancia del presente trabajo está en el estudio de las interacciones entre la microbiota intestinal y edulcorantes hipocalóricos y no nutritivos, así como su relación en el desarrollo de enfermedades no transmisibles como el exceso de masa corporal (y no sobrepeso), obesidad y diabetes mediados por la microbiota intestinal y, de esta manera, comprender los mecanismos por los cuales la microbiota intestinal lleva a un estado alterado de homeostasis en el huésped.

1.2. Hipótesis de trabajo

El consumo de edulcorantes calóricos e hipocalóricos suministrados a corto y mediano plazos provoca alteraciones en la microbiota intestinal de ratas y ratones, repercutiendo en el estado fisiológico del huésped.

1.3. Objetivo general

Investigar los efectos del consumo de edulcorantes calóricos e hipocalóricos a corto y mediano plazos sobre la microbiota intestinal de ratas y ratones, así como la relación de la disbiosis con enfermedades no transmisibles como exceso de

masa corporal, obesidad y diabetes *mellitus* mediante una revisión bibliográfica del material disponible sobre el tema en la última década.

1.4. Objetivos particulares

- Investigar el papel que juega la microbiota intestinal en el metabolismo de ratas y ratones que consumieron edulcorantes calóricos e hipocalóricos y sus repercusiones metabólicas
- Evaluar el efecto de los edulcorantes calóricos e hipocalóricos sobre los filos Firmicutes y Bacteroidetes comparando resultados encontrados en la literatura
- Conocer los efectos de la disbiosis ocasionada por el consumo de edulcorantes calóricos sobre el estado fisiológico del huésped.

Capítulo 2

Marco teórico

2.1. Gusto dulce y enfermedades no trasmisibles

El sabor dulce ha sido desde antaño una percepción importante para la humanidad y muchos seres vivos ya que significa una fuente de energía rápidamente metabolizable por el organismo. Aunque de forma errónea, el dulzor actualmente ha sido relacionado con el aumento de masa o la generación de caries dentales (Carocho et al., 2017). El gusto dulce es uno de los atributos de mayor impacto en los alimentos desde aquellos que son totalmente dulces como lo sería una fruta, donde el gusto dulce es proporcionado por glúcidos como la fructosa, la sacarosa o ambas, hasta el dulzor presente en alimentos de gusto amargo o astringente como son el café, el vino o la cerveza. Dicho gusto ha estado relacionado con altas cantidades de glúcidos, principalmente la fructosa, la glucosa y la sacarosa, pues este mono y diglúcido son los más empleados por diversas industrias de alimentos al utilizarlos en sus productos como las galletas, el pan llamado dulce, las bebidas carbonatadas, los néctares, los productos de confitería, las conservas, las gelatinas, los cereales, las bebidas lácteas, etc.

El azúcar (sacarosa) generalmente se añade a ciertos alimentos con la finalidad de que este ingrediente actúe como agente conservador; una vez disuelta la azúcar en agua, forma una disolución, haciendo que la presión osmótica incremente y de esta forma evita la descomposición del alimento por microorganismos (excepto microorganismos osmófilos¹). Por otro lado, al sustituir este carbohidrato por uno o varios edulcorantes artificiales, la presión osmótica se ve reducida y es necesario el uso de conservadores químicos, los cuales no han demostrado ser totalmente inertes en términos metabólicos.

Derivado del consumo excesivo de estos y de otros alimentos han aumentado desde hace más de cuatro décadas diversos padecimientos metabólicos o

¹ Microorganismos capaces de desarrollarse en altas presiones osmóticas

enfermedades no transmisibles, tales como el exceso de masa corporal (mal llamado sobrepeso -ver Glosario-), la obesidad grados 1, 2, 3 y 4, la prediabetes y la diabetes tipos I y II. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha declarado a la obesidad y a la diabetes *mellitus* como epidemias del siglo XXI y, aunque anteriormente se consideraba un problema confinado a los países de altos ingresos, en la actualidad la obesidad también es prevalente en los países de bajos y medianos ingresos (OMS, 2017). Diversos países alrededor del mundo han sumado esfuerzos para disminuir la obesidad en su población, incluso entre la población infantil. Este padecimiento se ha incrementado en años recientes, de acuerdo con los resultados de la Encuesta Nacional de Salud (INSP, 2018). Los datos indicaron que el 8.2% de la población de 0 a 4 años presentó obesidad, 18.1% de la población de 5 a 11 años presentó un exceso de masa corporal, 17.5% de la población de 5 a 11 años presentó obesidad, mientras que el 27.0% de las mujeres de 12 a 19 años presentaron un exceso de masa corporal, y el 14.1% de dicha población presentaron obesidad, el 20.7% de los hombres de 12 a 19 años presentaron un exceso de masa corporal y el 15.1% de dicha población actualmente tiene obesidad (INSP, 2018). Todos estos datos se basan en el uso del llamado “índice de masa corporal”, IMC. Este parámetro tiene muchos sesgos por lo que las entidades gubernamentales no debieran usarlo (Nuttall, 2015).

La obesidad infantil es uno de los problemas de salud pública más graves del siglo XXI. Los niños con exceso de masa tienen muchas probabilidades de convertirse en adultos obesos y, en comparación con los niños sin exceso de masa corporal, tienen más probabilidades de sufrir en edades prematuras diabetes *mellitus* y enfermedades cardiovasculares que, a su vez, se asocian con un aumento de la probabilidad de muerte prematura y de algún tipo de discapacidad (OMS, 2021).

Además de los alarmantes números sobre obesidad y del exceso de masa corporal en la población infantil en México, se ha estimado que un 10.3% de la población mayor de 20 años de edad, tiene un diagnóstico médico previo de diabetes, el 39.1% de la población mayor de 20 años de edad tiene exceso de

masa corporal y el 36.1% de esta misma población presenta obesidad, lo cual significa un incremento del 3.9% respecto con el 2012 (INSP, 2018).

Debido a la creciente preocupación por los padecimientos anteriormente mencionados, se ha incrementado el uso de sustitutos de fructosa, glucosa y sacarosa desarrollándose nuevos productos para disminuir o eliminar dichos carbohidratos de la dieta. Los sustitutos del azúcar² son compuestos que proporcionan el gusto dulce a los alimentos con un aporte energético bajo o nulo. Debido a la característica de los sustitutos de sacarosa, su demanda en los últimos años se ha incrementado y actualmente se encuentran diversos productos bajos en azúcar o sin la presencia de ella. Los edulcorantes acesulfame de potasio, sucralosa, aspartame, sacarina, neotame, advantame, ciclamato, sorbitol, manitol, xilitol, fruta del monje, glicirricina y glucósidos de esteviol (*stevia*) son algunos de los más consumidos en la actualidad a nivel mundial y se encuentran al alcance de la mayoría de la población.

2.2. Microbiota intestinal

El término microbiota hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos residentes en el intestino humano (Icaza-Chávez, 2013). Anteriormente era conocida como “flora intestinal”. Las comunidades microbianas presentes en el tracto gastrointestinal son extremadamente complejas y han sido identificadas más de 15,000 especies de bacterias de más de 1,800 géneros. Además de las bacterias, se han detectado aproximadamente 270 especies de hongos, 20 especies de arqueas y 35 especies de protozoos como ya se mencionó. Por ello, la microbiota intestinal es considerada como una de las comunidades más densamente pobladas incluso más que el suelo, el subsuelo y los océanos (Ruiz et al., 2012; Wilson, 2018). Actualmente se ha considerado a la microbiota intestinal como un órgano metabólico más, gracias a las funciones que desempeña en simbiosis con el huésped. Estas funciones van desde aspectos nutrimentales

² Los sustitutos de la fructosa, la glucosa y la sacarosa son conocidos popularmente como edulcorantes, a pesar de que la definición de edulcorantes propiamente engloba a todas las moléculas capaces de impartir gusto dulce, incluyendo a la fructosa, la glucosa y la sacarosa

como la degradación de carbohidratos complejos y la síntesis de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), hasta aspectos relacionados con la salud del huésped como son la secreción de moléculas con efectos bactericidas, la inhibición de bacterias patógenas, la competencia por la adhesión en el epitelio intestinal y el desarrollo del sistema inmunológico.

Gracias al reciente estudio de la microbiota intestinal y sus implicaciones hacia la salud, se han investigado los efectos negativos de los edulcorantes artificiales y naturales sobre este conjunto de microorganismos. Paradójicamente, a los supuestos efectos positivos sobre la salud de quien consume estos edulcorantes, algunos estudios señalan la capacidad de alterar las proporciones de microorganismos probióticos y patógenos, condición que no solamente afecta el microbioma intestinal, sino que es capaz de provocar otros padecimientos como inducir la obesidad, la resistencia a la insulina, alterar el funcionamiento del páncreas, elevar las concentraciones de glucosa en la sangre (hiperglucemia) e inducir la diabetes *mellitus* tipo II.

Algunos de estos edulcorantes tanto artificiales como naturales son capaces de atravesar la barrera placentaria e incluso ser excretados en la leche materna horas después de haberse consumido, provocando un consumo crónico desde etapas tempranas de la vida.

El consumo de edulcorantes artificiales y naturales a largo plazo no es inocuo, ya que, al forzar la capacidad del páncreas para producir insulina, podría aumentar la incidencia de diabetes *mellitus* entre la población (Guzmán, 2020).

La dieta y los efectos de ésta en la microbiota intestinal y en la respuesta inmune se han postulado como posibles explicaciones para el incremento en la incidencia de enfermedades inflamatorias como el asma y la diabetes *mellitus* tipo I en los países desarrollados (Maslowski y Mackay, 2011).

Los mecanismos asociados con los cambios en la microbiota intestinal comprenden la baja o nula metabolización de los edulcorantes, mismos que llegan intactos al tracto intestinal ejerciendo una acción biostática y/o bactericida.

Esto crea microbiomas en las distintas secciones del tracto gastrointestinal produciendo un desequilibrio en la composición bacteriana de un nicho ecológico

en comparación con el patrón considerado normal (Robles-Alonso y Guarner, 2013).

Por ello, a continuación se presenta la metodología seguida en esta investigación.

Capítulo 3

Metodología

La metodología empleada comprendió la búsqueda de información de manera digital (artículos de investigación y artículos de revisión) en bases de datos de la Biblioteca Digital de la UNAM (*Elsevier Scopus, ScienceDirect, Springer*), así como libros digitales consultados en la biblioteca antes mencionada, del mismo modo, se realizó la búsqueda a través de bases de datos abiertos independientes de la UNAM: *Nature, PubMed, Food Science, Cell Metabolism, Journal of Food Science, BioMed Research International, CellsPress, etc.*

Debido a las características del trabajo, no se hizo uso de datos experimentales de ningún tipo, esta investigación es puramente teórica.

Las búsquedas en las plataformas antes mencionadas se hicieron en el idioma inglés. Las palabras clave usadas fueron: *microbiota, sweeteners, probiotics, gut microbiota, dysbiosis, food additives, sucrose, aspartame, steviol glucosides, acesulfame K, saccharin, immune system, obesity, diabetes, inflammatory bowel disease, Crohn disease, irritable bowel syndrome*. La búsqueda de información se realizó mediante todas las combinaciones posibles de palabras.

Uno de los criterios de búsqueda fue la antigüedad de la información, de tal manera que los primeros artículos seleccionados fueron aquellos con una fecha de publicación más cercana al 2021, seguidos por aquellos con fecha de publicación del año 2020 y años anteriores. Los artículos consultados fueron de una antigüedad no mayor a 10 años, salvo aquellos que debido a la buena calidad de la información fueron considerados en el presente trabajo. Gracias a la tecnología de la mayoría de los buscadores, se estableció un intervalo de tiempo, el cual facilitó filtrar la información comprendida entre los años 2011 a 2021. Finalmente, se eliminó dicho filtro y se eligieron aquellos artículos que aportaron información de buena calidad al presente trabajo.

Capítulo 4

Resultados y discusión

4.1. Generalidades de los edulcorantes y uso tecnológico

El abuso del consumo de los hidratos de carbono, principalmente los refinados, ha sido relacionado con enfermedades de hipernutrición como la obesidad, diabetes *mellitus* y enfermedades cardiovasculares (Navarro, 2012). Recientemente la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha declarado a la obesidad y a la diabetes *mellitus* como epidemias del siglo XXI, como ya se mencionó.

Debido a la preocupación de aquellas personas que desean controlar su ingesta calórica, el uso de edulcorantes sintéticos se ha vuelto popular en los últimos 50 años (Castro-Muñoz et al., 2022). Los sustitutos de azúcar (sacarosa), también conocidos como edulcorantes hipocalóricos o edulcorantes artificiales, son aditivos alimentarios que se utilizan para sustituir el azúcar en una variedad de alimentos y bebidas (Laviada-Molina et al., 2019). A pesar de que los sustitutos de azúcar (sacarosa) artificiales fueron descubiertos hace más de un siglo, la aceptación de éstos por los consumidores no siempre ha sido la mejor; si bien alguna vez fueron considerados como uno de los logros más importantes para la industria alimentaria, muchas controversias, regulaciones y leyes en conflicto los han considerado moléculas no confiables (Carocho et al., 2017).

Tecnológicamente hablando, la sustitución de la sacarosa por los edulcorantes sintéticos no siempre es sencilla, ya que el azúcar desempeña, además, otras funciones en el alimento, como conservador, para conferir textura, consistencia adecuadas, etc. (Baduí-Dergal, 2006).

Los edulcorantes han sido clasificados de diversas maneras: Por su naturaleza, por su poder edulcorante, por su estructura molecular y por su aporte calórico. La primera clasificación se basa en el origen del edulcorante, es decir, si el edulcorante es obtenido de la naturaleza, principalmente de hojas y tallos de plantas o si es sintetizado químicamente. La segunda clasificación hace referencia al poder edulcorante con respecto de la sacarosa; de esta manera existen

edulcorantes con un alto poder edulcorante o intensos, que son cientos o incluso miles de veces más dulces que la sacarosa para las papilas gustativas. El poder edulcorante se define como la capacidad de una sustancia para desencadenar la señal de gusto dulce. Es medida subjetivamente tomando como base de comparación a la sacarosa, que es el glúcido de referencia y al que se le ha dado arbitrariamente el valor de 1.0, así que una solución de sacarosa de 30 g/L a 20°C tiene un poder edulcorante de 1 (Baduí-Dergal, 2006; Carochó et al., 2017). También existen otros edulcorantes considerados de volumen, los cuales requieren una mayor cantidad de ellos, siendo su poder edulcorante menor con respecto de los edulcorantes intensos. La tercera clasificación se realiza de acuerdo con su estructura molecular: Carbohidratos (monoglúcidos, diglúcidos, oligoglúcidos), proteínas, polioles o glucósidos. Finalmente, la clasificación por el aporte calórico se basa en la metabolización o aprovechamiento nutrimental del edulcorante. Aquellos edulcorantes que presentan un aporte energético son llamados calóricos o nutritivos, mientras que aquellos que tienen un aporte energético bajo, son conocidos como edulcorantes hipocalóricos o no nutritivos, tal y como se aprecia en la Tabla 1 (Carochó et al., 2017).

Tabla 1. Poder edulcorante y valores de IDA de los edulcorantes artificiales y extraídos químicamente más comunes (Carochó et al., 2017)

Edulcorante	Poder edulcorante (con respecto de la sacarosa)	Número E*	IDA (mg/kg mc*)
Acesulfame K	150-200	E950	0-15
Aspartame	200	E951	0-40
Ciclamato	30-80	E952	0-11
Fruta de monje	250-300	No especificado	No especificado
Glucósidos de esteviol (rebaudiósido A)	250-300	E960	0-4
Neotame	7000-13000	E961	0-2
Sorbitol	0.6	E420	No especificado
Manitol	0.6	E421	No especificado
Isomaltosa	0.5	E953	No especificado
Maltitol	0.4	E965	No especificado
Xilitol	1	E967	No especificado
Sucralosa	400-800	E955	0-15
Sacarina	240-300	E954	0-5

*Donde: IDA: Ingesta diaria aceptable, mg/kg de masa corporal; Número E: Claves usadas en la Unión Europea

A pesar de que existen una gran variedad de edulcorantes no todos han sido reconocidos como seguros para su consumo en humanos. De acuerdo con Castro-Muñoz et al. (2022), solamente seis edulcorantes han sido aprobados por la *Food and Drug Administration* de los EE. UU. (FDA), entre los que se encuentran el aspartame, neotame, sacarina, acesulfame K, sucralosa y advantame.

De acuerdo con Carocho et al. (2017), entre los edulcorantes más usados por la industria alimentaria se tienen al: acesulfame de K, aspartame, ciclamato, sacarina, sucralosa y neotame, mientras que entre los sustitutos de azúcar de origen natural más usados se encuentran los glucósidos de esteviol, la tumatina y mogrósidos (fruta de monje). El uso de cada sustituto del azúcar tomada como referencia, dependerá de diversas variables como el tipo de matriz alimentaria, los ingredientes empleados, su proceso de elaboración, el tipo de empaque del alimento y su vida de anaquel, entre otros.

4.1.1. Receptores de sabor dulce y edulcorantes

El sistema del gusto detecta cinco cualidades distintas: Amargo, dulce, ácido, salado y el ahora llamado umami por los japoneses (Banik y Medler, 2021). De acuerdo con Jin et al. (2021) el sistema del gusto en mamíferos es un ejemplo de un sistema programado para la preferencia de compuestos dulces como los glúcidos y sustitutos del azúcar y el rechazo por moléculas de gusto amargo. El paso inicial en la sensación y discriminación del material ingerido es la detección de sustancias químicas por las proteínas receptoras del gusto (Behrens y Munger, 2021).

Los edulcorantes son aditivos alimentarios añadidos en los alimentos para proporcionar el gusto dulce. El término edulcorante engloba todas las moléculas capaces de interactuar con los receptores del sabor dulce T1R2 y T1R3 presentes en las papilas gustativas, las cuales contienen aproximadamente de 50 a 100 células de origen neuroepitelial³ (Behrens y Munger, 2021) y, a su vez, se

³ Células sensoriales presentes en ciertas partes del cuerpo como el oído, la nariz, lengua y la piel

encuentran principalmente en el epitelio de la lengua, epiglotis y paladar. De acuerdo con Behrens y Munger (2021), los receptores de sabor dulce, amargo y umami en mamíferos se encuentran acoplados a una proteína G, mientras que los receptores de gusto salado y ácido son canales iónicos y, por ende, la transducción del gusto dulce ocurre de manera distinta; la transducción del gusto dulce, amargo y umami ocurre por medio de la activación de los receptores acoplados a la proteína G para después iniciar la cascada de señalización intracelular.

Según Palatnik et al. (2020), los receptores de sabor dulce también se encuentran en otras partes del cuerpo como en el intestino delgado, páncreas, pulmones, huesos, tejido adiposo y testículos; sin embargo, su función sigue en discusión.

De acuerdo con Navarro et al. (2017), el número aproximado de receptores de sabor dulce en el adulto es de aproximadamente 5,000 incrustados en el tejido estratificado, ausente en la zona central del dorso lingual. En el niño son más numerosos y con una distribución más amplia, ocupando el dorso de la lengua, paladar y mucosa yugal (Morales et al., 2015).

De acuerdo con Shallenberger (1996), para que un edulcorante proporcione el gusto dulce, debe formar un enlace intermolecular covalente entre un átomo de hidrógeno del glucóforo conocido como protón donador (A-H) y las proteínas receptoras del gusto dulce (B). Esta interacción provoca un cambio conformacional (Figura 1), el cual favorece la entrada del ion sodio y es traducido en el cerebro como dulzor.

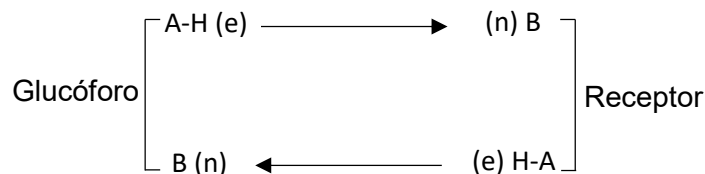


Figura 1. Representación de las interacciones entre protón donador (A-H) y (H-A), y proteínas receptoras del gusto dulce (B) (Shallenberger, 1996)

Para que un compuesto muestre un sabor dulce, la distancia molecular entre A y B debe ser de, al menos, 0.25 a 0.40 nm (Carocho et al., 2017).

Los edulcorantes, son reconocidos por las papilas gustativas en forma de disolución en la saliva y en los distintos sitios de los receptores del sabor dulce como se muestra en la Figura 2. Todos los edulcorantes comparten una estructura atómica similar, siendo un glucóforo, la característica estructural funcional activa en estos compuestos de sabor dulce responsables de la sensación de dulzura (Shallenberger, 1996). Dicho grupo es el encargado de interactuar con las papilas gustativas.

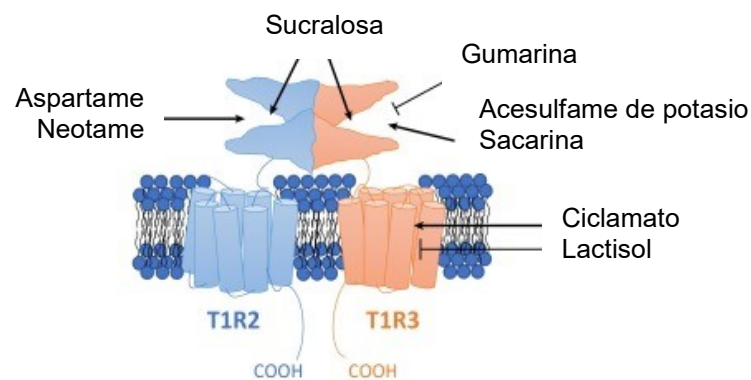


Figura 2. Sitios de interacción de algunos edulcorantes con los receptores de gusto dulce (Rother et al., 2018)

4.2. Empleo de animales modelo para estudios sobre metabolismo

Uno de los orígenes conocidos del uso del ratón como animal de laboratorio tuvo lugar en 1664, cuando el científico inglés Robert Hooke los empleó en sus estudios sobre las propiedades del aire (Carretero et al., 2017). El uso de estos organismos en el laboratorio se debe gracias a su parecido con el hombre; si bien el fenotipo no es para nada cercano, ambas especies comparten un gran porcentaje del genoma, incluso órganos como cerebro, corazón, pulmones, estómago, hígado, riñones, intestinos delgado y grueso, sistema respiratorio, circulatorio, digestivo, reproductivo y nervioso, tal como se aprecia en la Figura 3. Estos animales comparten con el ser humano, al igual que muchos otros, la

presencia de microbiota simbiótica, habitando diversas partes de su cuerpo. Al igual que el hombre, los ratones y ratas se alimentan para obtener energía por medio de la metabolización de sus alimentos luego de haber sido ingeridos. Este proceso presenta bastante similitud con el proceso de ingesta en el humano: La cavidad oral en ratas y ratones comienza en los labios y terminar en el esófago (Navarro et al., 2017), se forma de órganos accesorios como los dientes, la lengua y las glándulas salivales.

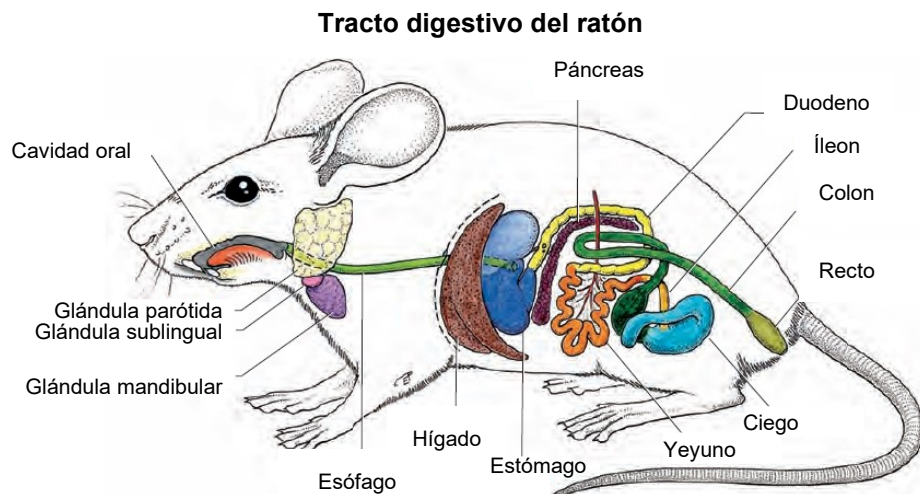


Figura 3. Tracto gastrointestinal del ratón (Navarro et al., 2017)

De acuerdo con Navarro et al. (2017), la principal función de la cavidad oral es la prensión y trituración de la comida gracias a la acción mecánica de los dientes. Posteriormente, se encuentra el esófago, el cual tiene pliegues y carece de glándulas submucosas, siendo la principal función la de transportar la comida previamente triturada y mezclada con la saliva hacia el estómago por medio de movimientos peristálticos gracias al tejido muscular estriado que rodea al esófago. Una vez que el bolo alimenticio se encuentra en la parte abdominal del esófago, el cardias del estómago se encarga de permitir el paso de esta mezcla hacia el estómago, evitando que el contenido del estómago regrese al esófago. En el estómago el bolo alimenticio se convierte en quimo como resultado de su mezcla

con los jugos gástricos, los cuales se componen de enzimas y ácido clorhídrico principalmente, secretadas por las células principales o zimogénicas y parietales u oxínticas, respectivamente.

El intestino delgado se encuentra separado del estómago por el píloro, el cual es una válvula que permite el paso del quimo hacia el duodeno, que es la primera parte del intestino delgado, seguido del yeyuno y finalmente el íleon, la sección más corta de este órgano. El intestino delgado del ratón mide unos 35 centímetros y carece de pliegues circulares, a diferencia de lo que se observa en otras especies animales, como el hombre (Navarro et al., 2017). Por otro lado, la mucosa intestinal se compone de epitelio columnar simple y lámina propia, las cuales forman las vellosidades intestinales encargadas de la absorción de los nutrientes. Las células más abundantes del epitelio intestinal son las células epiteliales columnares (enterocitos), que se encargan de la absorción intestinal (Navarro et al., 2017). Otro tipo de células presentes en el intestino delgado son las células de Paneth, las cuales se encargan de la secreción de lisozimas y criptidinas con acción antimicrobiana.

El intestino delgado del ratón tiene una longitud de aproximadamente 10 cm, y al igual que el intestino grueso humano, cumple la función de absorber agua y electrolitos de las heces, este órgano se divide en tres secciones: Ascendente, transversa y descendente. En humanos las concentraciones de ácidos grasos de cadena corta son típicamente más altas en el colon proximal (primera parte y parte media del intestino grueso) donde la biodegradación⁴ es mayor y la cantidad presente se relaciona con el suministro de carbohidratos en la dieta (Padrón, 2019). El recto compone la última parte del intestino grueso, seguido del ano al final del tracto gastrointestinal. La vascularización del intestino se origina principalmente en la arteria mesentérica craneal, una rama visceral no apareada de la aorta abdominal, que desciende de la raíz mesentérica para vascularizar el intestino (Navarro et al., 2017).

⁴ La fermentación, nombre dado por Louis Pasteur, es la bioconversión anaerobia por *Saccharomyces cerevisiae* de la glucosa a bióxido de carbono y alcohol etílico. Todas las demás bio-reacciones no son fermentaciones sino justamente bio-reacciones o biotransformaciones o biodegradaciones

4.2.1. Metabolismo de los edulcorantes calórico e hipocalóricos

El metabolismo se define como el conjunto de cambios químicos y físicos que se producen en los tejidos del cuerpo cuando los alimentos son convertidos de grandes moléculas a moléculas más pequeñas (Thompson et al., 2018). Este proceso está dividido en catabolismo y anabolismo. El anabolismo es el proceso encargado de la síntesis de moléculas complejas y generalmente más grandes a partir de moléculas de menor complejidad y tamaño. Por el contrario, el catabolismo es la degradación de moléculas complejas a moléculas más simples. Este último proceso es el encargado de proveer de energía al cuerpo a partir de la energía química que se encuentra en los alimentos, llevándose a cabo en el tracto gastrointestinal. El catabolismo de los alimentos es un proceso complejo ya que implica el empleo de órganos especializados en la degradación de los macronutrientes presentes en los alimentos (proteínas, lípidos, hidratos de carbono) para ser transportados como moléculas sencillas (aminoácidos, ácidos grasos, glicerol, monoglúcidos) y realizar funciones vitales en el interior de la célula. El metabolismo de algunos alimentos o componentes no siempre ocurre, debido principalmente a su naturaleza intrínseca. Esta característica es aprovechada, por ejemplo, por los sustitutos del azúcar, al no ser metabolizados por el cuerpo, tampoco representan un aporte energético para el mismo, sin dejar de lado su función tecnológica y de instinto al interactuar con las papilas gustativas y proporcionar el gusto dulce. Algunos de los edulcorantes no nutritivos son totalmente degradados (aspartame, por ejemplo), mientras que otros edulcorantes no nutritivos no son metabolizados y la mayoría de ellos (sucralosa, acesulfame K) circulan en el cuerpo y son encontrados en la sangre, orina y heces (Palatnik et al., 2020). La sacarina es absorbida lentamente y no se metaboliza en el organismo humano, siendo excretada rápidamente en la orina sin modificar (Navarro, 2012). Esto significa que los edulcorantes no nutritivos son capaces de atravesar el tracto gastrointestinal e interactuar con los órganos propios del sistema digestivo y la microbiota intestinal, incluso algunos edulcorantes como el ciclamato es degradado por este conjunto de microorganismos.

Al igual que en el ser humano, los ratones comparten algunos receptores de sabor dulce presentes en la lengua y parecen tener preferencia al gusto dulce, tal como lo demostraron Moreno-Martínez et al. (2011) en donde un grupo de ratones prefirió una solución de sacarosa (2.8 g sacarosa/100 mL) sobre otras soluciones de aspartame (4.7 mg/100 mL), sucralosa (4.8 mg/100 mL) y un control (agua pura). Las ratas del grupo consumieron más del doble de la solución azucarada que el grupo control, pudiéndose notar la preferencia de la especie por los sabores dulces en sus alimentos ya que dan energía rápida convirtiéndose en ATP (Moreno-Martínez et al., 2011). A pesar de la preferencia ante este carbohidrato sobre los sustitutos del azúcar, la exposición prolongada o repetida a un estímulo gustativo puede provocar una adaptación aguda o una reducción en la capacidad de respuesta y la sensibilidad al estímulo (Burke y Small, 2015). De esta manera podría ocurrir una disminución en la sensibilidad del sabor dulce capaz de influir en la aceptación de los edulcorantes. Sin embargo, no se puede perder de vista que los edulcorantes, especialmente los artificiales, se acompañan por más de un ingrediente, por lo que su capacidad de respuesta puede verse alterada por interacciones con otros compuestos presentes en el alimento o las bebidas no alcohólicas en la vida real. Incluso existe evidencia de que el cerebro es capaz de diferenciar edulcorantes calóricos de los edulcorantes no calóricos. En los estudios realizados por Smeets et al. (2011) evaluaron bebidas endulzadas con sacarosa y una mezcla de edulcorantes (aspartame, acesulfame K, ciclamato de sodio y sacarina de sodio) encontrando una activación diferencial de las áreas del cerebro implicadas en la regulación de la ingesta de alimentos por las versiones calóricas y no calóricas de un refresco (Smeets et al., 2011).

También se han identificado receptores del gusto dulce en varias regiones del cerebro, incluido el hipotálamo, donde pueden estar directamente involucrados en la homeostasis de la glucosa⁵. El hipotálamo mostró los niveles más altos de expresión génica relacionada con el gusto, seguido por la corteza y el hipocampo (Burke y Small, 2015; Ren et al., 2009). Según Burke y Small (2015) la expresión

⁵ Proceso de autorregulación, en este caso para mantener una correcta cantidad de glucosa en sangre

del gen Tas1R2, codificante de la subunidad T1R2, se observó en una mayor proporción al haber un medio hipoglucémico, mientras que en un medio hiperglucémico, la expresión se vio reducida. Esta reducción siguió después de agregar sucralosa al medio, ya que se produjo una reducción aún más robusta de la expresión del gen Tas1R2, con niveles que disminuyeron aproximadamente un 300% con respecto de la línea basal, lo cual aumentó la posibilidad de que la magnitud del efecto pudiera estar relacionada con la afinidad del receptor (Burke y Small, 2015).

En los estudios realizados por Mitsutomi et al. (2014) se investigaron los efectos de los edulcorantes no nutritivos sobre el metabolismo energético en ratones con obesidad inducida por la dieta. Entre los resultados obtenidos observaron que el grupo de ratones tratados con sacarosa aumentaron la hiperglucemia, adiposidad y su masa corporal con respecto de los grupos tratados con edulcorantes no nutritivos y el grupo control. Por otro lado, la suplementación con edulcorantes no nutritivos disminuyó la hiperglucemia en comparación con el grupo al que se le suministró sacarosa (Mitsutomi, 2014). Los niveles séricos de insulina y glucosa⁶ fueron mayores en el grupo de ratones que bebieron agua y sacarosa con respecto de los grupos que bebieron agua con edulcorantes no nutritivos.

La sacarina es uno de los edulcorantes más estudiados. Fue el primer edulcorante no nutritivo de alto poder edulcorante descubierto en 1878. Es excretado a través de la orina y no es metabolizado por el cuerpo (Carocho, 2017). En algunos estudios (Suez et al., 2014) realizados durante once semanas, ratones de la cepa C57BL/6 de 10 semanas de edad fueron expuestos al consumo de este aditivo con una formulación comercial (95% glucosa, 5% sacarina). Los resultados del estudio señalaron que en este periodo los ratones que consumieron sacarina desarrollaron intolerancia a la glucosa, incluso más que los ratones tratados con sucralosa y aspartame. Los estudios profundizaron en los efectos desarrollados por la sacarina, por lo cual se alimentaron ratones C57BL/6 con una dieta rica en

⁶Insulina y glucosa presente en el suero sanguíneo

grasa (60% del contenido energético proveniente de lípidos) asignándose dos grupos: Sacarina y glucosa (control). Los ratones alimentados con una dieta rica en grasas y sacarina comercial desarrollaron intolerancia a la glucosa, en comparación con el grupo de ratones control (Suez et al., 2014). Un seguimiento cohorte hecho con ratones C57BL/6 de 10 semanas de edad, suministrados con una dieta rica en grasas y 0.1 mg/mL de sacarina pura (valor igual al IDA en humanos) fueron capaces en desarrollar intolerancia a la glucosa, al igual que con la sacarina comercial. Esta dosis más baja de sacarina pura se asoció con una tolerancia deficiente a la glucosa comenzando tan pronto como 5 semanas después del inicio de la dieta rica en grasas (Suez et al., 2014). Finalmente, se realizó trasplante fecal de ratones alimentados con una dieta normal y sacarina, así como ratones alimentados con una dieta normal y glucosa a “ratones libres de gérmenes” (denominados “*germ-free*”). Estos últimos ratones desarrollaron intolerancia a la glucosa luego de 6 días de haberseles realizado el trasplante. Los resultados sugirieron que la intolerancia a la glucosa inducida por edulcorantes no nutritivos fue mediada por alteraciones de la microbiota comensal, con contribuciones de diversos taxones bacterianos (Suez et al., 2014).

Según Rother et al. (2018), algunas de las consecuencias del consumo de edulcorantes no nutritivos fueron cambios metabólicos mediados por la activación de los receptores del gusto dulce en los tejidos orales y extraorales (por ejemplo, intestino, células β pancreáticas y cerebro) y alteraciones del microbioma intestinal.

Por otro lado, la secreción de la insulina después del consumo de edulcorantes sigue siendo poco claro (Rother et al., 2018); mientras que algunos autores (Brown et al., 2011; Ma et al., 2009; Wu et al., 2012) han reportado la secreción de insulina luego de haber consumido algunos edulcorantes como sucralosa y acesulfame K, otros autores (Lertrit et al., 2018; Pepino et al., 2013; Sylvetsky et al., 2016) indicaron que los sujetos de prueba no mostraron cambios en la secreción de insulina después de haber consumido los edulcorantes antes mencionados; sin embargo, estos resultados contradictorios fueron atribuidos a las distintas metodologías empleadas entre los autores.

La leptina también juega un papel importante en la modulación de las respuestas cerebrales al equilibrio energético y al metabolismo de la glucosa (Lee y Owyang, 2019). De acuerdo con los estudios de Raben et al. (2011), hechos con modelos humanos, el consumo de sacarosa (2 g de sacarosa/kg de masa corporal) durante 10 semanas dio como resultado concentraciones posprandiales⁷ más altas de glucosa, insulina, leptina, glucagón y *GLP-1* en comparación con un grupo de personas sanas que consumieron una dieta acompañada de bebidas comerciales endulzadas con edulcorantes artificiales no calóricos. Como ocurre con la mayoría de los edulcorantes, el acesulfame de K presenta un regusto amargo, que también podría contribuir al aumento de los niveles de *GLP-1* (Geraedts et al., 2011).

La liberación de otras hormonas como la colecistoquinina (*CCK*), encargada de la secreción de enzimas provenientes de la vesícula biliar por medio del esfínter de Oddi hacia el duodeno, ha demostrado ser mayor cuando se consumen edulcorantes en modelos *in vitro* como lo demostraron en su estudio Geraedts et al. (2011). Los resultados mostraron que la liberación de *CCK* aumentó después de exponer las células STC-1⁸ a edulcorantes no calóricos, en comparación con la sacarosa (Geraedts et al., 2011). Sin embargo, no hay que olvidar que el consumo de edulcorantes está acompañado de otros aditivos la mayoría de las veces, por lo que el efecto sobre algunas hormonas y sus efectos generales pueden verse potenciados sinérgicamente por la presencia de esos otros aditivos.

4.3. Generalidades de la microbiota intestinal

El tracto gastrointestinal constituye la principal superficie de intercambio y comunicación entre el medio externo y el medio interno (Guarner, 2007). La microbiota intestinal es la comunidad de microorganismos vivos residentes en un nicho ecológico determinado (Icaza-Chávez, 2013). Anteriormente era conocida como flora intestinal debido a la antigua clasificación taxonómica. Sin embargo,

⁷ Término utilizado para referirse a mediciones hechas luego de una comida

⁸ Línea celular tumoral de secretina intestinal

hoy se define como el conjunto de microorganismos como bacterias, levaduras, hongos y algunas arqueas que viven en el intestino. La mayor parte de la microbiota intestinal reside en el intestino grueso, en donde se ubica principalmente la biotransformación bacteriana (Korpela, 2018). Los microorganismos colonizan todas las superficies del cuerpo humano que se encuentran expuestas al entorno externo incluyendo la piel, la cavidad oral, el tracto respiratorio, urogenital y el gastrointestinal (Icaza-Chávez, 2013). El número de células bacterianas supera en gran cantidad al número de células del cuerpo humano. En términos de números, las estimaciones sugieren que un adulto alberga aproximadamente 10^{13} - 10^{14} bacterias, 10^{15} virus y un número desconocido de arqueas, hongos y protozoos (Wilson, 2018). En cuanto al genoma de la microbiota intestinal se ha estimado que la microbiota intestinal por sí sola, tiene aproximadamente 500 veces más genes que los presentes en el genoma humano (Wilson, 2018).

La colonización del tracto gastrointestinal comienza pocos minutos después de nacer, inclusive la evidencia científica ha demostrado la presencia de ADN bacteriano en el tejido placentario. La ausencia de respuesta inflamatoria ante la presencia de bacterias placentarias sería un indicio de que el microbioma neonatal podría sembrarse antes del nacimiento (Uberos, 2020). Entre las variables de la colonización del tracto gastrointestinal se encuentra la vía de nacimiento ya que los perfiles fecales microbianos del lactante muestran un parecido marcado con los perfiles bacterianos del canal de parto y de la leche materna y la dieta (Palmer et al., 2007). Los mamíferos que crecen “libres de gérmenes” tienen un desarrollo corporal anormal, con pared intestinal atrófica, corazón, pulmones e hígado de baja masa y un sistema inmune inmaduro con niveles bajos de inmunoglobulinas (Macpherson et al., 2001).

Contrario a lo que se piensa, el ambiente que rodea a un recién nacido no es completamente estéril; incluso la leche materna tiene microbiota acompañante capaz de influir en la colonización y desarrollo de la microbiota intestinal, así como en el desarrollo de enfermedades crónicas como múltiples alergias, asma y obesidad. Otros componentes de la leche, como los oligoglúcidos de la leche

humana (*HMO*), los ácidos grasos de la leche, las hormonas, las células inmunitarias y los anticuerpos, también podrían modular el "microambiente" de la leche y crear una restricción de nicho que afecte la composición de la comunidad microbiana (Moossavi et al., 2019).

En individuos sanos, la microbiota muestra una serie de funciones que permiten mantener la integridad de la barrera mucosa, el aporte de nutrientes y la protección frente a agentes patógenos (Santoni et al., 2020). Dichas asociaciones simbióticas han sido encontradas y estudiadas en años recientes. Entre ellas se encuentra la protección de los enterocitos por medio de la síntesis de moléculas con acción bactericida, la disminución del pH intestinal y la adhesión fuerte a la mucosa intestinal. El uso de probióticos como *B. longum*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* y *S. boulardii* han demostrado tener efectos positivos en la protección intestinal, el ácido láctico producido por *L. bulgaricus* ayuda a mantener un pH bajo en el intestino delgado. Este microorganismo es capaz de producir un antibiótico al igual que *S. boulardii*, el cual secreta una leucina aminopeptidasa que lo protege contra patógenos (Oak y Jha, 2018).

La mucosa intestinal ejerce funciones de inmunidad adaptativa, ya que el sistema tiene la capacidad de responder a una infinidad de antígenos⁹. También existe la inmunidad innata que reconoce determinados antígenos y que es heredada filogenéticamente desde las plantas hasta los vertebrados. Asimismo, los enterocitos pueden actuar como células presentadoras de antígenos, sugiriendo que su papel no se limita a la defensa innata, sino que también participan en el escalón inicial de las respuestas de tipo adquirido (Brandtzaeg, 2002; Icaza-Chávez, 2013). La teoría de la higiene supone que el exceso de limpieza y la disminución en la exposición a las bacterias a temprana edad impide el correcto desarrollo de los mecanismos inmunorreguladores que previenen las respuestas inapropiadas de las células T y de las enfermedades inflamatorias posteriores (Maslowski y Mackay, 2011).

⁹ Sustancia que al ser detectada por el sistema inmunológico, desencadena una respuesta inmunitaria caracterizada por inflamación debido a la formación de anticuerpos

Una de las funciones ampliamente estudiadas es la síntesis de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) en el intestino grueso. Las bacterias intestinales, incluyendo los probióticos producen una amplia gama de ácidos grasos que pueden tener efectos benéficos para la salud (Devaraj et al., 2013). Los AGCC son metabolitos resultantes de la biotransformación. Entre estas moléculas se encuentra el acetato, butirato y propionato, los cuales tienen diversas funciones como la síntesis de glucosa y lípidos *de novo*, sirven como fuente de energía en el huésped (los AGCC representan entre el 2 y el 10% del consumo total de energía de los seres humanos) y constituyen la fuente principal de energía para las células epiteliales del intestino grueso. También afectan la producción de mucinas (moco) e incluso son capaces de estimular la secreción del péptido similar a glucagón 1 (*GLP-1*) a través del receptor *FFAR2* (receptor de ácidos grasos libres-2) acoplado a la proteína G de la mucosa del colon. Lo anterior da como resultado la supresión de la secreción de glucagón induciendo la secreción de insulina dependiente de glucosa promoviendo una homeostasis de la glucosa (Alarcón y Rojo, 2020; Devaraj et al., 2013; Tolhurst et al., 2012). Por otro lado, además de las funciones antes descritas, la microbiota intestinal interviene en la producción de vitaminas, la regulación del metabolismo de los lípidos y la regulación de la expresión génica (Harmsen y De-Goffau, 2016).

4.4. Colonización temprana de la microbiota intestinal

La colonización y desarrollo de la microbiota intestinal en ratas y ratones ha demostrado ser fundamental para un correcto funcionamiento del sistema inmunológico y del sistema gastrointestinal. Existe un fuerte vínculo entre la microbiota intestinal y la aparición de trastornos metabólicos o estados inflamatorios del tracto gastrointestinal (Mortera et al., 2019). Además de los factores genéticos, la microbiota intestinal inmediatamente después del nacimiento también se encuentra íntimamente relacionada con el desarrollo y crecimiento del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (Watanabe et al., 2021).

Durante el nacimiento, la microbiota de la madre es transferida hacia el recién nacido, siendo los primeros microorganismos que se encuentran en la vida temprana del bebé, los de la microbiota materna (McDonald y McCoy, 2019). Si bien la evidencia científica se había centrado en el estudio de microorganismos durante complicaciones en el embarazo en modelos humanos, la evidencia reciente ha demostrado la presencia de microbiota en el útero, refutando la hipótesis de un medio estéril antes del nacimiento (Tochitani, 2021). La colonización del tracto gastrointestinal es un tema que se mantiene en debate ya que la evidencia científica de hace más de un siglo sostiene la hipótesis del útero estéril, en donde la microbiota se implantaría después del nacimiento (Figura 4).

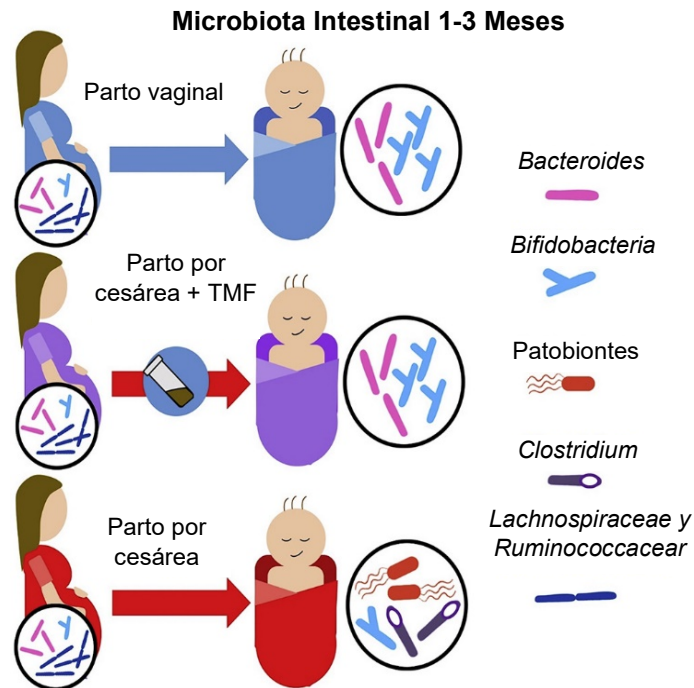


Figura 4. Composición de la microbiota intestinal presente en recién nacidos de acuerdo con su forma de nacimiento (Korpela et al., 2020)

Sin embargo, gracias al uso de técnicas moleculares cada vez más sofisticadas, la evidencia científica ha demostrado la presencia de ADN bacteriano en el tejido placentario, por lo que la ausencia de respuesta inflamatoria ante la presencia de bacterias placentarias, indicaría que el microbioma neonatal podría sembrarse antes del nacimiento (Uberos, 2020). En estudios recientes, Korpela et al. (2020)

evaluaron la composición de la microbiota intestinal de 7 recién nacidos por cesárea (modelo humano) trasplantados con microbiota fecal (TMF, en su primer toma de leche materna), en total se obtuvieron 82 muestras entre los recién nacidos por parto natural y los recién nacidos por cesárea sin trasplante de microbiota fecal. En aquellos bebés que nacieron por parto vaginal se observó una microbiota formada por *Bacteroides* y *Bifidobacterias*, mientras que la composición de la microbiota intestinal de bebés que nacieron mediante cesárea se observaron géneros como *Clostridium*, *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae*.

El uso de un trasplante de microbiota fecal (TMF) de la madre asemejó la composición de la microbiota a la de un bebé nacido por cesárea (Korpela et al., 2020).

En otro experimento, se secuenció el gen ARNr 16S de muestras fecales de recién nacidos tratados con el trasplante de microbiota fecal, haciendo lo mismo con las muestras fecales de las madres (3 semanas antes del parto, muestras con las cuales se prepararon los trasplantes) y muestras de dos días antes del parto. Como se esperaba para los adultos, las microbiotas en las muestras de estas madres fueron muy similares pero claramente distintas de las de las muestras de los bebés (Korpela et al., 2020). El análisis de las muestras reveló que la microbiota de los recién nacidos fue distinta con respecto de la microbiota de las madres donantes, lo que sugiere que el desarrollo de la microbiota fue selectivo. La microbiota de las madres tuvo la composición adulta característica, dominada por *Ruminococcaceae* y *Lachnospiraceae* (Korpela et al., 2020), mientras que las muestras del meconio¹⁰ estuvieron compuestas principalmente por *Aeromonas* spp.

La mayoría de los neonatos tuvieron un desarrollo normal de la microbiota intestinal. Seis de los siete bebés mostraron un desarrollo uniforme de la microbiota con *Bacteroides* y *Bifidobacterium* spp. aumentando rápidamente a la dominancia (Korpela et al., 2020), mientras que en las muestras fecales del segundo día, *Bacteroides* spp. fue el género de mayor abundancia.

¹⁰ Término usado para referirse a la primera deposición del neonato

En conclusión, la microbiota de bebés humanos nacidos por cesárea tratados con el trasplante de microbiota fecal, fue similar a la microbiota de bebés nacidos por parto natural (vía vaginal) luego de siete días. Por otro lado, la microbiota de los bebés nacidos por cesárea sin tratamiento alguno, fue distinta a los grupos antes mencionados como se mostró en la Figura 4.

En otros estudios realizados por Jiménez et al. (2008) hechos con ratones preñados usaron una cepa de *E. faecium* HA1 para investigar la transferencia de bacterias comensales a través de la barrera placentaria de madre a hijo. En dichos estudios, se administró una cepa resistente a cloranfenicol (*E. faecium* JLM3) genéticamente marcada a ratones preñados (10 semanas de edad, grupo A), siendo la concentración de bacterias inoculadas igual a 10^8 UFC suspendidas previamente en 200 μ L de leche, esta concentración de microorganismos fue administrada hasta el día del parto y usada en un grupo control (grupo B) de ratones sin el inóculo correspondiente de *E. faecium* JLM3. Un día antes del parto, se tomaron muestras del meconio de los fetos mediante cesárea y las muestras fueron cultivadas en agar MRS (37°C/24 h). La selección de colonias fue al azar y se realizó un análisis mediante *PCR* para identificar las bacterias marcadas genéticamente.

Los resultados indicaron la presencia de la cepa de *E. faecium* JLM3 en el meconio de los fetos del grupo A y del grupo B, a pesar de que a este último grupo no fue inoculado con la cepa. Los resultados de la prueba de *PCR* mostraron que entre las colonias resistentes a cloranfenicol, 12 colonias contenían el marcador genético específico de las células transformadas de *E. faecium* JLM3 (Jiménez et al., 2008). En las colonias aisladas del grupo B, solamente mostraron resistencia al cloranfenicol, pero ninguna contenía la marca genética. De acuerdo con Jiménez et al. (2008), la presencia de bacterias en el meconio se debió a que dichos microorganismos fueron capaces de viajar desde el tracto intestinal hasta el líquido amniótico por medio del torrente sanguíneo, demostrando así la transmisión vertical de la madre hacia al hijo inclusive antes del nacimiento.

De acuerdo con Younge et al. (2019), la microbiota de la piel y el meconio del feto cambia con la etapa del desarrollo (Figura 5). En los embarazos medio-tardíos

y tardíos, la microbiota del intestino fetal y la piel se atribuye más comúnmente a la placenta, seguida de la membrana amniótica (Younge et al., 2019).

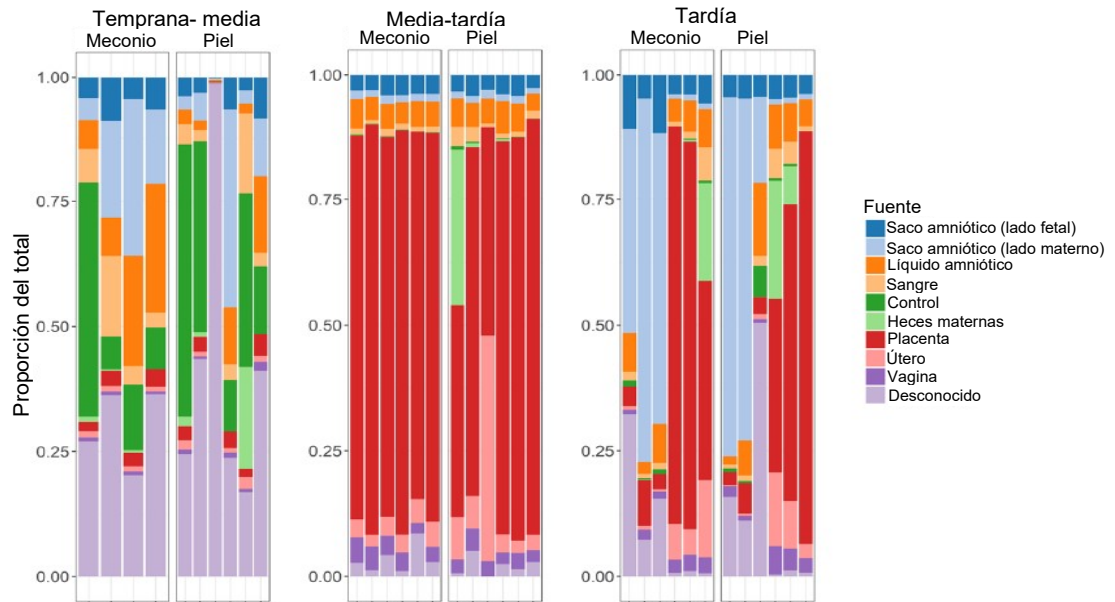


Figura 5. Fuentes predichas de la microbiota fetal murina. Se rastrearon las fuentes probables de ADN bacteriano en el intestino y la piel de fetos de gestación temprana-media, media-tardía y tardía. Muestras de 2 madres y sus respectivos fetos (Younge et al., 2019)

Para profundizar la investigación en este modelo, las muestras obtenidas de madres y fetos fueron homogeneizadas y sembradas en medios de cultivo. Los cultivos positivos, es decir aquellos que tuvieron bacterias viables y cultivables, fueron más comunes en la mitad de la gestación, mientras que las muestras obtenidas cerca del término completo no dieron cultivos positivos a pesar de la presencia de secuencias de ADN bacteriano (Younge et al., 2019). Entre las bacterias identificadas se encuentran: *Lactobacillus*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Bacteroides* y *Bacillus* como se aprecia en la Figura 6. Muchos de estos taxones también se cultivaron a partir de muestras fecales y vaginales de la madre y, ocasionalmente, se aislaron colonias con identidades de secuencia de alta confianza al mismo tiempo de sitios fetales y maternos. Las cepas de *Enterococcus* aisladas de la placenta fueron similares a las cepas de la vagina y a las de las heces maternas (Younge et al., 2019).

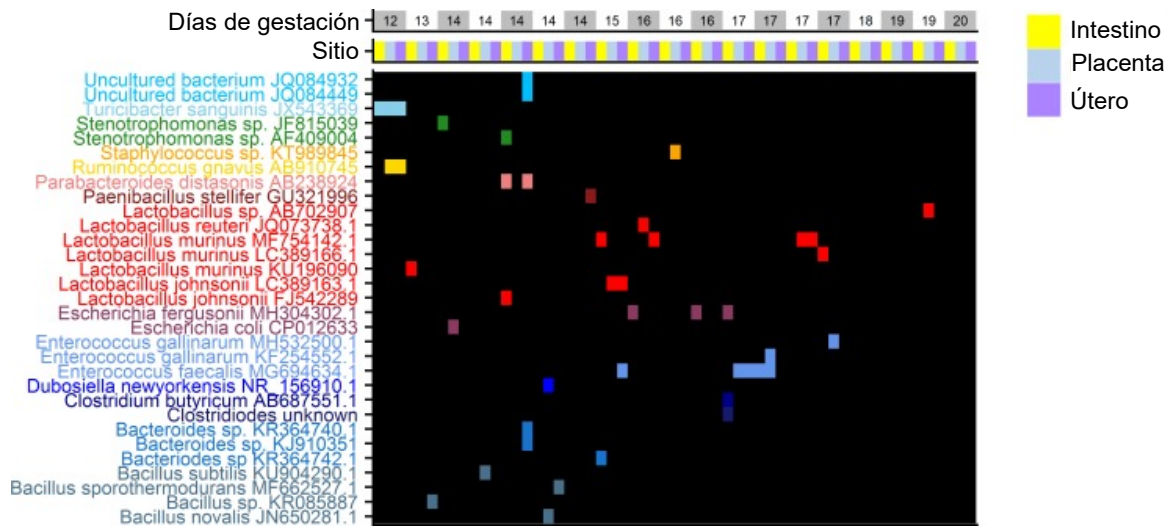


Figura 6. Bacterias cultivadas a partir del intestino fetal de ratones, la placenta y el útero de acuerdo con la gestación (Modificada de Younge et al., 2019)

Otra variable en la colonización de la microbiota intestinal es la dieta. La complejidad y diversidad de la microbiota intestinal dependen, en gran medida, de los sustratos que el huésped provee a la microbiota a través de la dieta. La dieta se basa en nutrientes individuales y grupos de alimentos, así como en aditivos alimentarios naturales y artificiales teniendo un impacto directo en la microbiota intestinal. Además, la dieta modula la composición y funcionalidad de esta comunidad de microorganismos en humanos y en otros mamíferos (Rinninella et al., 2022; Sonnenburg y Bäckhed, 2016).

De acuerdo con los estudios de Wang et al. (2017), en donde se alimentaron con 100 µL de leche materna humana a ratones “libres de gérmenes” de la cepa C57BL/6J de ocho semanas de edad, la cepas que se identificaron fueron *Staphylococcus lugdunensis*, especie parecidas a *Streptococcus infantis* y dos especies parecidas a *Streptococcus salivarius* en la leche materna (Wang et al., 2017). En los ratones alimentados con leche materna humana se identificaron especies como *S. epidermidis*, *Str. parasanguinis*, *Corynebacterium pseudogenitalium* y especies similares a *Propionibacterium acnes*. Estas mismas bacterias no fueron detectadas en la leche materna pero sí en las muestras fecales de ratones tomadas de la semana 4 a la semana 8. Las bacterias de la

leche materna que se volvieron más abundantes (>1%) en los ratones receptores fueron *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus* y *Propionibacterium* (Wang et al., 2017). De acuerdo con los autores, las bacterias antes mencionadas se encuentran también en modelos humanos nacidos por cesárea. A pesar de que la colonización comienza por dichos microorganismos, este grupo de bacterias solamente se encuentra durante las primeras semanas de vida y es así como la microbiota intestinal se comporta como un sistema dinámico que cambia y se adapta a lo largo de la vida del huésped. De acuerdo con Mitchell et al. (2020), los recién nacidos poseen una microbiota intestinal relativamente simple y toma cerca de 3 años para alcanzar la complejidad y diversidad de una microbiota intestinal similar a la de un adulto, incluso algunas bacterias específicas forman parte de la microbiota intestinal hasta los cinco años de edad (Rautava, 2021). Según Wang y Lin (2021), el desarrollo y establecimiento de la microbiota intestinal en humanos ocurre por medio de la lactancia, existen cerca de 10^2 - 10^4 bacterias viables por cada mL de leche materna. Entre los géneros presentes se encuentran *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus* y *Bifidobacterium*. Se ha sugerido que este grupo de bacterias se transportan desde el intestino de la madre hasta las glándulas mamarias. Los recién nacidos amamantados pueden tener cepas bacterianas más beneficiosas, como *Bifidobacteria* y *Lactobacillus*, mientras que las proporciones de bacterias potencialmente patógenas como *Clostridium* son menores (Wang y Lin, 2021).

4.5. Caracterización de la microbiota intestinal

Hoy en día se sabe que la mayor parte de los microorganismos de este ecosistema no se puede cultivar con los medios tradicionales, siendo únicamente posible su detección tras la secuenciación de ADN como la huella genética (Del-Campo-Moreno et al., 2018). El uso de técnicas moleculares para la caracterización de la microbiota intestinal ha hecho más fácil este complejo proceso. Una de las técnicas más empleadas es la secuenciación del gen 16S. El ARNr 16S, es un polirribonucleótido de aproximadamente 1,500 nucleótidos,

codificado por el gen *rrs*, también denominado ADN ribosomal 16S (ADNr 16S) a partir de cuya secuencia se puede obtener información filogenética y taxonómica (Rodicio y Mendoza, 2004). La secuenciación de las regiones variables del gen que codifica para la subunidad 16S del ARN (ARNr 16S) identifica el parecido filogenético de las bacterias y de las arqueas. Sin embargo, hasta ahora solamente se han identificado y caracterizado alrededor de un tercio de las 1,000 especies bacterianas diferentes (Chong et al., 2019). Esta técnica consta de tres etapas: Amplificación, determinación de la secuencia de nucleótidos y análisis de la secuencia. La primera etapa comienza con la obtención de una muestra de ADN, la cual frecuentemente se obtiene de muestras de heces. Este método ofrece la ventaja de que no se necesita de un microorganismo vivo como en un medio de cultivo. Después de haber extraído el ADN de la muestra y haber sido purificado, se procede con una reacción en cadena de la polimerasa (*PCR*), donde el sustrato es el mismo ADN obtenido. La segunda etapa consiste en la secuenciación del ADNr 16S. Según lo establecido por Rodicio y Mendoza (2004), basta con la secuenciación de las primeras 500 bases de dicha molécula para la identificación de microorganismos como bacterias. En cualquier caso, la secuenciación de las dos cadenas del ADNr 16S completo será necesaria a la hora de identificar nuevos patógenos (Rodicio y Mendoza, 2004). Finalmente, los datos obtenidos de la secuenciación se comparan con bases de datos obtenidos de diversas fuentes a nivel internacional y cuando hay una semejanza en el ARN 16S del 95% se habla de género, y cuando la semejanza es del 97%, se habla de especie (Icaza-Chávez, 2013; Peterson et al., 2008).

De acuerdo con los resultados obtenidos en bibliografía reciente (Ruiz et al., 2012; Wilson, 2018), la microbiota intestinal sana se compone de más de 100 billones de bacterias de más de 500 especies distintas, los filos¹¹ más representados son Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria y Proteobacteria, seguidos de Fusobacteria y Verrucomicrobia. Los filos Firmicutes y Bacteroidetes

¹¹ Categoría taxonómica establecida entre el reino y la clase

representan casi el 90% de la microbiota intestinal humana (Rinninella et al., 2022), tal como se aprecia en la Figura 7.

Los géneros representantes del filo Bacteroidetes son *Bacteroides* y *Prevotella*, mientras que los géneros que componen al filo Firmicutes están compuestos principalmente por *Clostridium*, *Blautia*, *Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Roseburium*, *Ruminococcus*, *Streptococcus* y *Lactobacillus* (Harmsen y De-Goffau, 2016). Por otro lado, *Bifidobacteria*, *Propionibacteria* y *Corynebacteria* son los géneros representativos del filo Actinobacteria, el género *Escherichia* para Proteobacteria, los géneros *Fusobacterium* y *Leptotrichia* para Fusobacteria y el género *Akkermansia muciniphila* para Verrucomicrobia.

Además de las bacterias, se han detectado aproximadamente 270 especies de hongos, 20 especies de arqueas y 35 especies de protozoos. La microbiota intestinal es una de las comunidades más densamente pobladas, incluso más que el suelo, el subsuelo y los océanos (Ruiz et al., 2012; Wilson, 2018), como se mencionó al inicio.

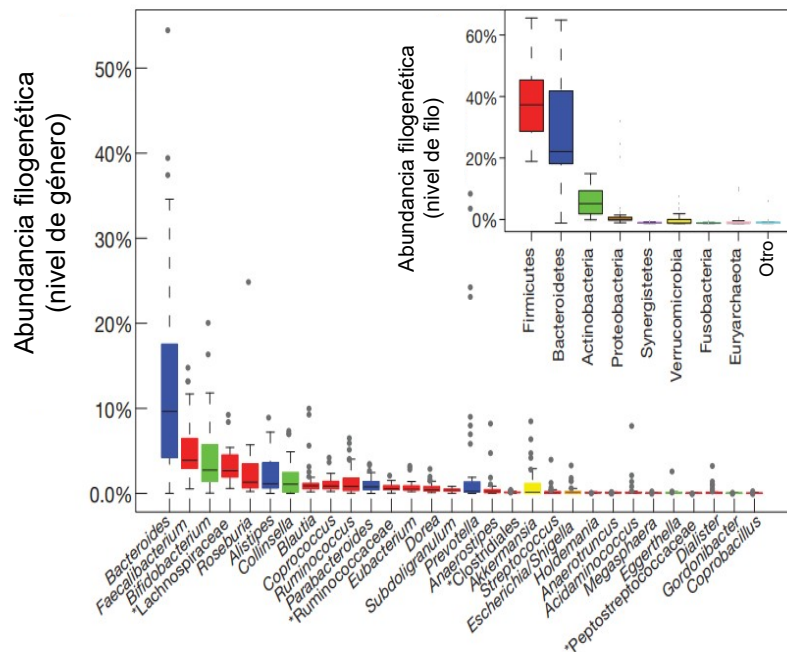


Figura 7. Géneros y niveles microbianos más abundantes en el tracto gastrointestinal humano (Álvarez et al., 2021)

El estudio reciente de la microbiota intestinal y sus implicaciones hacia la salud, han señalado efectos negativos de los edulcorantes sobre este conjunto de microorganismos. Los supuestos efectos positivos de los edulcorantes son contrarrestados por algunos estudios en modelos de roedores que señalan la capacidad de alterar las proporciones de microorganismos probióticos y patógenos. Esta condición no solamente afecta el microbioma intestinal sino que es capaz de provocar otros padecimientos como inducir la obesidad, inducir la resistencia a la insulina, alterar el funcionamiento del páncreas, elevar las concentraciones de glucosa en la sangre (hiperglucemia) e inducir la diabetes *mellitus* tipo II (Burke y Small, 2015; Daher et al., 2019; Marteau et al., 2019; Ribeiro y Oliveira-Maia, 2021; Suez et al., 2014), como se mencionó al inicio de esta investigación.

4.5.1. Bacteroidetes

Las especies de *Bacteroides* son bacilos Gram negativos anaerobios, resistentes a la bilis, que no forman esporas (Wexler, 2007). De acuerdo con Fernández-Julia et al. (2021) el género *Bacteroides* es el principal género dentro del filo Bacteroidetes; se caracterizan por ser comensales intestinales comunes y pueden ser patógenos oportunistas bajo ciertas circunstancias, como *B. fragilis* (Figuras 8A y 8B), por ejemplo. En términos de dieta, *Bacteroides* es el género más frecuente en países industrializados y se asocia con hábitos dietéticos propios de la vida urbana (Álvarez et al., 2021).

El género *Prevotella* (Figuras 8C y 8D), por otro lado, se ha relacionado positivamente con dietas ricas en fibra dietética y baja en grasas, tal como lo mencionan Chen et al. (2017). Una posible explicación de su prevalencia en este tipo de población se debe a su capacidad de metabolizar carbohidratos complejos al igual que el género *Bacteroides*.

Algunos estudios como los de Ilijazovic et al. (2021) han cuestionado la presencia de este microorganismo en la microbiota intestinal, debido a que *Prevotella* spp. podría tener propiedades beneficiosas para la salud y, por otro lado, *Prevotella* spp. puede desempeñar un papel contribuyente en enfermedades

inflamatorias (Iljazovic et al., 2021), entre las cuales destacan artritis reumatoide, periodontitis, disbiosis intestinal y enfermedad inflamatoria intestinal (EII). Recientemente se ha estudiado la relación de Bacteroidetes y Firmicutes, relacionando favorablemente un desequilibrio entre estos dos filos con la obesidad en modelos humanos y murinos (Kang et al., 2021).

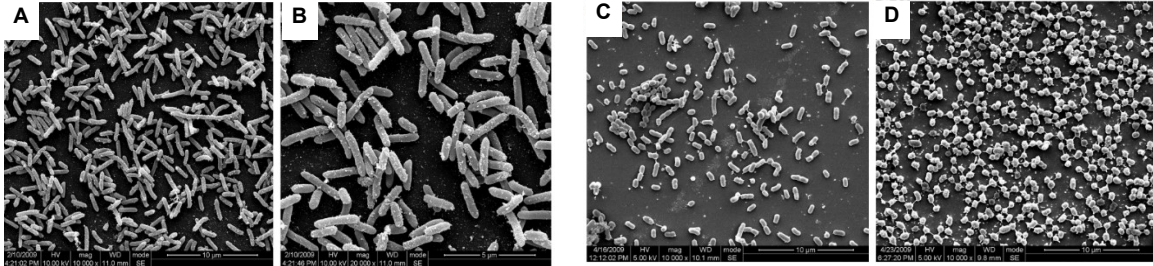


Figura 8. A y B, *Bacteroides fragilis* bajo el microscopio. C y D, *Prevotella intermedia* bajo el microscopio (Zhou y Li, 2015)

4.5.2. Firmicutes

Los Firmicutes son bacilos Gram positivos, capaces de formar endosporas. Dentro de esta familia se incluyen los géneros *Clostridium* (compuesto de organismos anaerobios), *Bacillus* (que pueden ser aerobios o anaerobios facultativos) y *Mollicutes* (Ochoa, 2013). Al igual que la mayoría de los microorganismos, la distribución a lo largo del tracto intestinal no es homogénea, en el íleon terminal predominan los Firmicutes con géneros como *Streptococcus*, *Veilonella* y *Clostridium* (Samarkos et al., 2018).

De acuerdo con Brasca et al. (2022), el género *Clostridium* comprende aproximadamente 231 especies. La mayoría de estas especies son microorganismos anaerobios estrictos, no reductores de sulfato capaces de formar endosporas resistentes al calor, las sustancias químicas y la desecación. Las especies del género *Clostridium* presentan fenotipos heterogéneos y pueden crecer en un amplio rango de temperatura (3.3 a 80°C) con un óptimo entre 25 y 40°C (Brasca et al., 2022). Algunas especies del género *Clostridium* han sido identificadas como microorganismos patógenos, *C. difficile* (Figura 9A) una vez que ha germinado en el intestino grueso puede adherirse al epitelio del colon y

secretar sus factores de virulencia, principalmente las toxinas A y B y la toxina binaria (Samarkos et al., 2018).

El género *Blautia* (Figura 9C) está formado por bacterias anaerobias, de forma esférica u ovalada, incapaces de formar endosporas, crecen en una temperatura óptima de 37°C y un pH óptimo de 7.0. Todas las cepas de *Blautia* pueden usar glucosa, pero diferentes cepas mostraron diferentes capacidades para usar sacarosa, fructosa, lactosa, maltosa, ramnosa y rafinosa (Liu et al., 2021b).

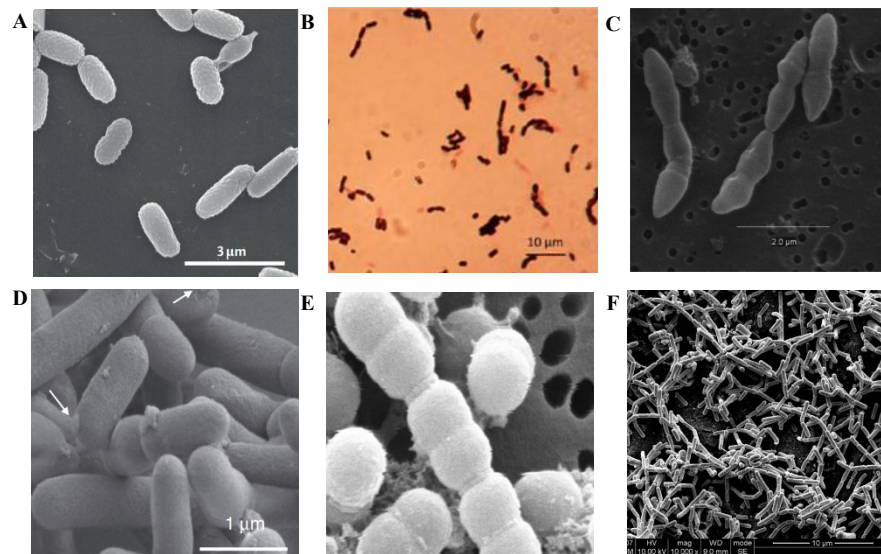


Figura 9. (A) *Clostridium difficile*, (B) *Bacillus* sp., (C) *Blautia brookingsii*, (D) *Faecalibacterium prausnitzii*, (E) *Ruminococcus flavefaciens* y (F) *Lactobacillus acidophilus* (Ghimire et al., 2020; Miquel et al., 2013; Smits et al., 2016; Villarreal-Delgado et al., 2018; Vodovnik et al., 2013; Zhou y Li, 2015)

Debido a que diversas especies de *Blautia* se han relacionado positivamente con el control de enfermedades inflamatorias y metabólicas, comúnmente se usa este microorganismo como un probiótico. Estudios hechos con un modelo humano *in vivo* se encontró una mayor abundancia de *Blautia* spp. en niños con una masa corporal normal, mientras que en niños con obesidad la abundancia de *Blautia* spp. se vio reducida. En dichos estudios también se observó que *B. wexlerae* F15 redujo la proporción de *IFN-γ/IL-4* (interferón-γ/interleucina 4) en mayor medida, mientras que *B. luti* DSM 14534 pareció reducir la proporción de *TNF-α/IL-4* (factor

de necrosis tumoral α /interleucina 4), parámetros usados como índice de la respuesta antiinflamatoria (Benítez-Páez et al., 2020).

Por otro lado, el género *Faecalibacterium* se compone de bacterias anaerobias, Gram positivas, con forma de bacilo e incapaces de formar endosporas. Una de las especies más conocidas de este género es *F. prausnitzii* (Figura 9D); es una de las especies bacterianas más abundantes en el colon de adultos humanos sanos y que representa más del 5% de la población bacteriana total (Leylabadlo et al., 2020). Se considera un microorganismo comensal y uno de los microorganismos más importantes en términos de síntesis de butirato, el cual tiene un papel crucial en la fisiología intestinal y el bienestar del huésped (López-Siles et al., 2017). De acuerdo con Miquel et al. (2013), la abundancia relativa de *F. prausnitzii* puede usarse como un biomarcador de la salud, de tal forma que niveles bajos de este microorganismo podría ayudar a predecir la enfermedad de Crohn (EC). *F. prausnitzii* es un productor de butirato y ha demostrado tener efectos antiinflamatorios *in vitro* e *in vivo* utilizando un modelo de colitis de ratón, lo que lo convierte en un miembro clave de la microbiota que puede contribuir a la homeostasis intestinal (Miquel et al., 2013).

Ruminococcus (Figura 9E) se caracterizan por ser bacterias anaerobias Gram positivas; es considerada una bacteria comensal y su presencia en niveles altos ha sido relacionado con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) y enfermedades autoinmunes. Recientemente también se han relacionado algunas especies de este género con el desarrollo de diabetes tipo I. Abdellatif et al. (2019) encontraron que *Ruminococcus gnavus* mostró un pico en abundancia relativa en niños susceptibles a diabetes *mellitus* tipo I.

Finalmente, el género *Lactobacillus* es quizás uno de los géneros más mencionados gracias a su popularidad en la industria alimentaria. Las especies de *Lactobacillus* se caracterizan por ser bacterias anaerobias o aerobias facultativas con forma de bacilo, Gram positivas e incapaces de formar endosporas. Algunos lactobacilos del complejo *acidophilus* (*acidophilus*, *bulgaricus* y *johnsonii*) han sido explotados durante milenios en la producción de productos lácteos bioprocesados, como los yogures (Neish, 2017).

Una de las especies más conocidas es *Lactobacillus acidophilus* (Figura 9F), la cual es una especie termófila que crece de manera óptima a 35-40°C, pero puede crecer a temperaturas tan altas como 45°C (Ozogul et al., 2022). Gracias a sus condiciones de proliferación es aprovechada por la industria alimentaria para la elaboración de productos lácteos como yogurt, kéfir, bebidas biotransformadas, etc. De acuerdo con Sakandar y Zhang (2021), el consumo de leches “fermentadas” (biotransformadas) se ha relacionado favorablemente con la mejora de la salud intestinal, prevención de varios tipos de cáncer, respuesta inmune y disminución del deterioro cognitivo.

Recientemente, se recomienda el uso de probióticos para mejorar la disbiosis en pacientes con COVID-19, en donde se ha observado la disminución de algunas bacterias probióticas como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* spp., la intervención nutricional y la aplicación de probióticos y/o prebióticos podrían modular la microbiota intestinal y disminuir el riesgo de infecciones secundarias debido a la translocación bacteriana (Sakandar y Zhang, 2021).

4.5.3. Actinobacteria

El filo Actinobacteria está formado por tres géneros principales: *Bifidobacteria*, *Propionibacteria* y *Corynebacteria*, caracterizados por ser bacterias anaerobias Gram positivas, incapaces de formar endosporas. De acuerdo con Binda et al. (2018), el filo Actinobacteria juega un papel muy importante en el mantenimiento de la homeostasis de la barrera intestinal, biodegradación de almidón resistente y ayuda en la disminución del deterioro de la función cognitiva.

Uno de los géneros más conocidos es *Bifidobacteria* (Figura 10A) cuyo género es el más representativo en el intestino humano (Binda et al., 2018) y se ha considerado como bacteria comensal. Dicho género cumple la función de mantener la integridad de la barrera intestinal, sintetizar ácidos grasos de cadena corta (AGCC), proteger contra bacterias enteropatógenas, metabolizar carbohidratos complejos, participar en el desarrollo del sistema inmunológico y modular la respuesta inflamatoria y autoinmune induciendo células T reguladoras (Binda et al., 2018).

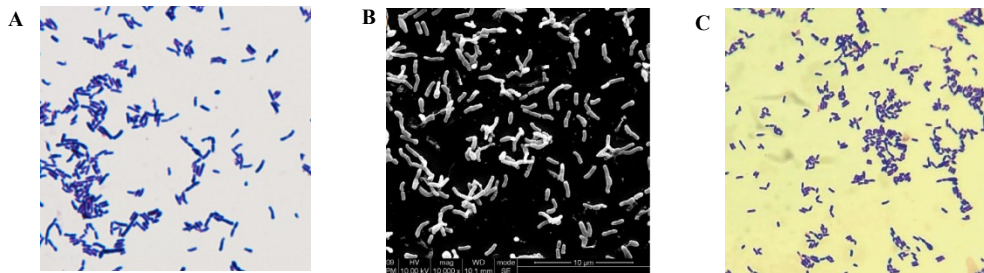


Figura 10. (A) Tinción de Gram de *Bifidobacterium dentium*, (B) *Propionibacterium acnes*, (C) Tinción de Gram de *C. pseudodiphtheriticum* (Mühlhauser, 2019; Zhou y Li, 2015)

Schroeder et al. (2018) demostraron la capacidad de *Bifidobacterium* para reparar la capa mucosa del colon en ratones luego de haber sufrido alteraciones por una dieta occidental en la microbiota intestinal (disbiosis) y el crecimiento reducido de la capa interna de moco; la administración de *Bifidobacterium longum* fue suficiente para restaurar el crecimiento de la mucosidad (Schroeder et al., 2018). Debido a los múltiples beneficios hacia la salud del huésped, algunas especies de *Bifidobacteria* se han usado como probióticos, los organismos que pertenecen al género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* generalmente se reconocen como seguros (GRAS) (Zuo y Marcotte, 2021), por lo que estos microorganismos se añaden a muchos productos como fórmulas lácteas, bebidas lácteas, bebidas biotransformadas, etc. Gracias a las nuevas técnicas de edición genética como el CRISPR-Cas, al día de hoy existen probióticos genéticamente modificados, principalmente para eliminar genes de resistencia a antibióticos. Para desarrollar lactobacilos y bifidobacterias probióticos fuertes, seguros y efectivos para aplicaciones alimentarias y farmacéuticas, la edición del genoma se puede utilizar para realizar la eliminación, adición, activación y modulación en sus genomas (Zuo y Marcotte, 2021).

El género *Propionibacteria* está formado por bacterias de 13 especies diferentes. Las bacterias de este género son bacilos pleomórficos¹² Gram positivos, anaerobios a aerotolerantes a microaerófilos, que no forman esporas,

¹²Que presenta diversas formas

crece en un intervalo de temperatura de 15 a 40°C y un intervalo de pH de 5.1 a 8.5 con un desarrollo óptimo a 30°C y pH neutro (Jan et al., 2007; McDowell y Nagy, 2015). Si bien algunas especies de *Propionibacteria* se han relacionado con infecciones también se han informado ventajas terapéuticas de propionibacterias en humanos y animales contra una amplia gama de agentes infecciosos, incluidos parásitos, bacterias y virus (McDowell y Nagy, 2015). Además de su aplicación como probiótico, los miembros del género *Propionibacterium* (Figura 10B) se utilizan ampliamente en la producción de vitamina B₁₂, compuestos de tetrapirrol y ácido propiónico, así como en las industrias alimentaria en la producción de queso (Kiatpapan y Murooka, 2002).

La familia *Corynebacteriaceae* está compuesta por los géneros *Corynebacterium* (Figura 10C) con una gran cantidad de especies. Dicho grupo de bacterias se caracterizan por ser pleomórficas Gram positivas, aerobias y anaerobias, no ácido-resistentes. Se considera que la mayoría de las especies de *Corynebacterium* son inocuas, ubicuas y, a menudo, se consideran parte de la flora normal de la mucosa o la piel. A pesar de que ya se ha probado la aplicación de *C. pseudodiphtheriticum* como probiótico, la bacteria está asociada con infecciones oportunistas de tipo cutánea (Burkovski, 2015; Fong et al., 2021; Nasim et al., 2021). De acuerdo con Nasim et al. (2021), se ha estimado que cerca de 31 especies de *Corynebacterium* como *C. pseudotuberculosis*, *C. amycolatum* y *C. auriscanis* están relacionadas con patogenicidad en distintas especies animales, mientras que algunas especies como *Corynebacterium haemolyticum*, *C. jeikeium*, *C. diphtheriae* y *C. ulcerans* se han relacionado con patogenicidad en humanos, en donde distintas especies presentan resistencia a múltiples antibióticos como ampicilina, ciprofloxacina, gentamicina, eritromicina, penicilina y tetraciclina (Nasim et al., 2021).

4.5.4. Proteobacteria

De acuerdo con Shin et al. (2015), los miembros del filo Proteobacteria tienen una morfología muy variable y una fisiología versátil, lo que les da una ventaja competitiva para sobrevivir. En mamíferos se encuentra formando parte de la

microbiota de distintas partes del cuerpo; la microbiota de la cavidad bucal de los seres humanos sanos tiene la mayor abundancia relativa de proteobacterias, seguida de la piel, el tracto gastrointestinal y el tracto vaginal (Shin et al., 2015). El filo de Proteobacteria se divide en 6 clases: Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria, Gammaproteobacteria, Deltaproteobacteria, Epsilonproteobacteria y Zetaproteobacteria (Rizzatti et al., 2017). De acuerdo con Wang y Lin (2021), algunos géneros de este filo están presentes durante etapas tempranas de la vida en humanos sin desarrollar patologías, mientras que en etapas más maduras de la vida la presencia de niveles altos de Proteobacterias pueden ser señal de disbiosis y consecuentemente señalar la presencia de alguna enfermedad en el huésped (Shin et al., 2015).

Otro de los géneros más estudiados es *Escherichia coli* (Figura 11A y 11B). Las especies de este género se caracterizan por ser bacterias en forma de bacilos Gram negativos, las cuales no forman endosporas. *E. coli* es una bacteria mesófila, con un crecimiento óptimo entre 35 a 43°C y un pH óptimo de 7.2.

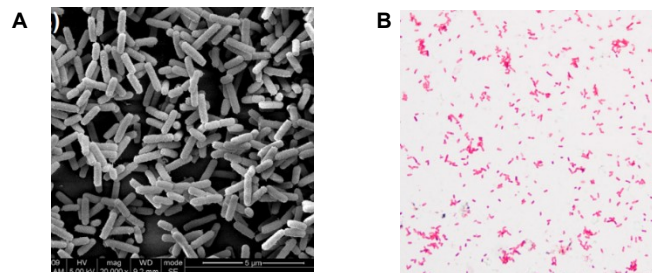


Figura 11. (A) *E. coli* sp., (B) Tinción de Gram para *E. coli*, al ser una bacteria Gram negativa se tiñe de rosa (Zhou y Li, 2015)

Se encuentra principalmente en el intestino grueso, ciego y en el colon de los mamíferos y reside en la capa mucosa, desde la cual pasa a la luz intestinal y se excreta en las heces (Lee et al., 2021). Este género es uno de los primeros en colonizar el tracto gastrointestinal de recién nacidos, junto con algunos géneros como enterobacterias; sin embargo, estas proporciones no se mantienen a lo largo de la vida. La transición a una microbiota estable y menos reactiva se asoció con la producción de IgA específica, que ataca especialmente a las Proteobacterias, lo

que sugiere un papel importante de las células B en el control y modulación de las bacterias intestinales mediante la producción de inmunoglobulinas¹³ (Rizzatti et al., 2017).

La mayoría de las cepas de *E. coli* son inocuas, pero algunas pueden causar graves intoxicaciones alimentarias, como *E. coli* productora de toxina de Shiga (OMS, 2018), además de las distintas cepas como *E. coli enterotoxigénicas*, *E. coli enteropatógenas*, *E. coli enteroagregativas*, *E. coli enterohemorrágicas* y *E. coli enteroinvasivas*.

Entre las enfermedades relacionadas con *E. coli* se encuentran la intoxicación alimentaria, el daño de los tejidos intestinales y diarrea sanguinolenta en los niños pequeños (Lee et al., 2021).

En un estudio Eaton et al. (2011) demostraron la capacidad del probiótico *Lactobacillus reuteri* para suprimir la colonización de una especie de *E. coli* enterohemorrágica. De acuerdo con los resultados, tres semanas después de la inoculación, la colonización por *E. coli* enterohemorrágica fue significativamente menor en los ratones coinoculados con *L. reuteri* (Eaton et al., 2011).

Del mismo modo, Hu et al. (2021) demostraron la capacidad de *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus* para mejorar la infección provocada por *E. coli* enterohemorrágica; la infección provocó una disminución en la proporción de Bacteroidetes y Firmicutes además de un aumento en la proporción de Proteobacteria (Hu et al., 2021) pero, después del tratamiento con los probióticos, las proporciones de Bacteroidetes y Firmicutes regresaron a un nivel más alto en comparación con el grupo control.

Consecuentemente el filo Proteobacteria redujo su nivel; la abundancia de *Bacteroides*, *Helicobacter pylori* y *Escherichia-Shigella* infectados por *E. coli* aumentó y después de la suplementación con *Lactobacillus*, su abundancia disminuyó en diversos grados (Hu et al., 2021). Además, el análisis histológico reveló que el tratamiento con *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus plantarum* y

¹³ Conjunto de proteínas presentes en suero sanguíneo producidas por células B y células plasmáticas. Tienen una importante función contra infecciones al unirse específicamente con un antígeno

Lactobacillus rhamnosus tuvo un efecto positivo sobre el estado del colon de los ratones infectados (Hu et al., 2021).

4.6. Eubiosis y disbiosis de la microbiota intestinal

La eubiosis, como ya se mencionó, es el término empleado para referirse al equilibrio de la microbiota intestinal, siendo un estado en el cual la microbiota es capaz de desarrollar sus importantes funciones como protección contra microorganismos patógenos, síntesis de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), degradación de carbohidratos complejos, etc. Esta condición depende de varios factores como son la dieta del huésped, su estilo de vida, el empleo de antibióticos, su sistema inmune y su edad, entre otros.

Las proporciones mayores de bacterias simbióticas con respecto de las bacterias patógenas y una amplia diversidad de bacterias son sinónimo de eubiosis. Para que el huésped goce de protección frente a patógenos y producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), por ejemplo, el sistema inmune presente en el intestino deberá ser capaz de diferenciar bacterias benéficas de bacterias patógenas y, a su vez, éstas deberán permanecer en un número adecuado para no inducir respuestas inmunes en el huésped. Una microbiota intestinal sana es fundamental para promover la salud del huésped; sin embargo, el crecimiento excesivo de la población bacteriana conduce a una variedad de condiciones nocivas (Iebba et al., 2016).

En condiciones de eubiosis, las especies de *Candida* generalmente se describen como levaduras comensales en individuos con tractos gastrointestinales saludables (Gouba et al., 2019). La eubiosis generalmente se asocia a un estado de homeostasis, caracterizada por una gran diversidad y complejidad de la microbiota intestinal. Esta condición se logra mediante la ingesta de una dieta correcta y de algunos otros factores como son los agentes probióticos, prebióticos y simbióticos.

Por otro lado, la disbiosis es el estado de desequilibrio, caracterizada por una disminución en la diversidad y proporción de bacterias probióticas. Diversos

factores pueden llevar a esta condición, destacando una dieta rica en grasas, uso de aditivos alimentarios, la edad o los factores ambientales, entre otros. Disbiosis (a veces llamada "disbacteriosis") se refiere a un desequilibrio percibido en las proporciones de grupos bacterianos que componen una comunidad microbiana. Puede producirse en cuestión de días, particularmente tras la ingesta de antibióticos, pero también puede ser consecuencia de otras acciones a más largo plazo, relacionadas con la dieta (Del-Campo-Moreno et al., 2018; Tannock, 2017). La disbiosis puede manifestarse como el aumento de las bacterias causantes de enfermedades, la disminución de especies bacterianas benéficas para la salud y/o la reducción de la diversidad de especies bacterianas (Padrón, 2019). Como se mencionó anteriormente, la disbiosis tiene varios orígenes, siendo la dieta y el consumo de fármacos las variables más estudiadas. De acuerdo con Levy et al. (2017) la disbiosis tiene distintos orígenes ya sea por una infección o inflamación, la alimentación, la genética del huésped, las alteraciones circadianas, la dieta materna rica en grasas, etc. (Figura 12). Por ello, se puede apreciar, que los factores tanto endógenos como exógenos contribuyen a la composición de la microbiota (Iebba et al., 2016).

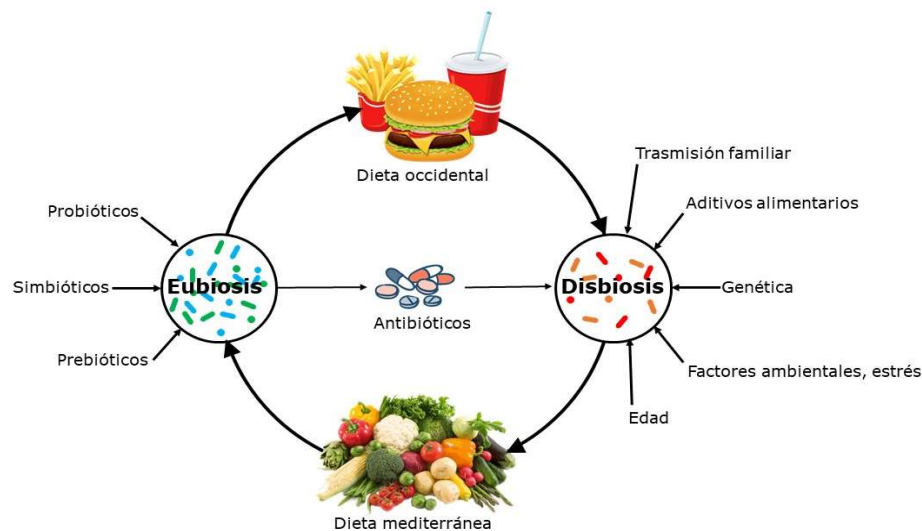


Figura 12. Eubiosis y disbiosis de la microbiota intestinal (Autoría personal)

4.6.1. Dieta y disbiosis de la microbiota

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la dieta se define como la mezcla de alimentos sólidos y líquidos que un individuo o grupo consumen. La dieta saludable y correcta debe ser completa, equilibrada, inocua, suficiente, variada y adecuada. Además de estas características, la dieta varía de acuerdo con los siguientes factores: Culturales, ambientales, individuales, económicos, zona geográfica y disponibilidad de alimentos, entre otros (Del Razo, 2020). La ingesta de alimentos provee la energía y nutrientes necesarios para el correcto funcionamiento celular. Dentro de estos nutrimentos se encuentran tres macronutrientes: Carbohidratos, proteínas y lípidos como se observa en la Figura 13.

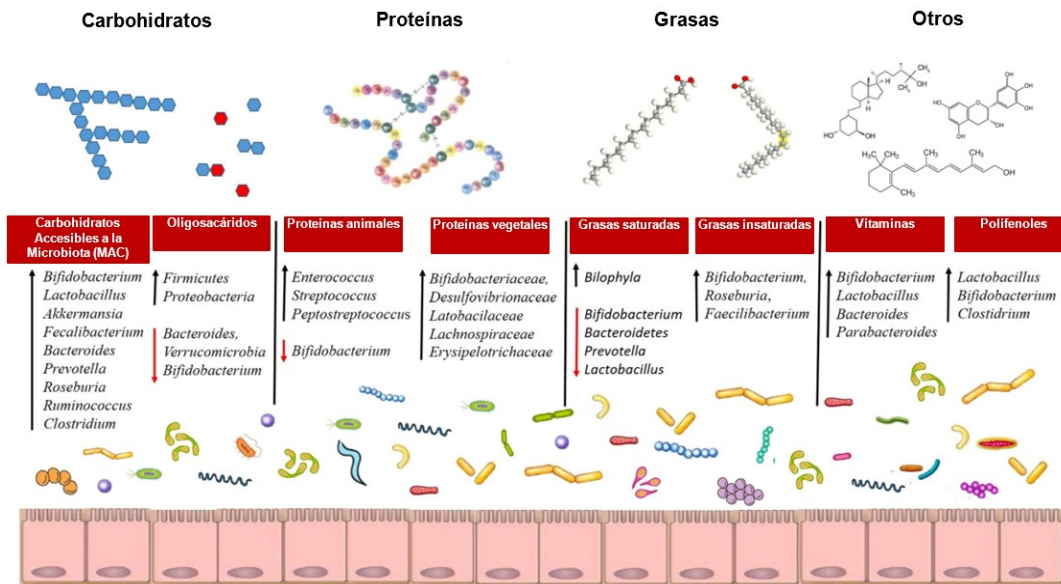


Figura 13. Macronutrientes y su efecto en la microbiota intestinal (Ramos y Martín, 2021)

Los carbohidratos son compuestos formados por átomos de carbono e hidrógeno principalmente. Existe un gran número de hidratos de carbono; los más conocidos son la sacarosa, la glucosa, la fructosa, el almidón y la celulosa, pero también hay otros que se encuentran en menor concentración en los productos que consumimos diariamente (Baduí-Dergal, 2006), los carbohidratos forman parte del sustrato que la microbiota intestinal usa como fuente de carbono, para desarrollar sus funciones vitales y diversas rutas metabólicas, por ejemplo.

Uno de los carbohidratos más conocidos, debido a su uso como prebiótico, es la fibra, particularmente, la fibra dietética (carbohidrato no digerible). Al ser biohidrolizada en el colon, promueve selectivamente el crecimiento o la actividad de la microbiota, lo que tiene efectos funcionales y beneficiosos para el huésped (Abreu-y-Abreu et al., 2021). Por otro lado, el uso de otras moléculas como la povidexrosa¹⁴, la carboximetilcelulosa, los polioles, los taninos, la quitosana, entre otros también han sido utilizados como prebióticos (Pyle, 2021).

Los cambios en la dieta tienen efectos directos sobre la microbiota intestinal ya que pueden afectar la producción de metabolitos y, por lo tanto, influir en el equilibrio funcional. Las dietas ricas en grasas modifican la microbiota intestinal de manera negativa y provocan disbiosis, mientras que las dietas a base de plantas la afectan de manera positiva (García-Gutiérrez y Sayavedra, 2021; Tsigalou et al., 2021).

Tanto en el occidente como en los países en vías de desarrollo, las dietas ricas en grasas, proteínas y glúcidos, junto con una ingesta reducida de fibras no absorbibles, se asocian con un rápido aumento de la incidencia de enfermedades intestinales no infecciosas (De Filippo et al., 2010). En las últimas décadas, han surgido hábitos dietéticos novedosos, como las dietas vegetarianas, sin gluten, cetogénicas y otras más, con las que nuestro ecosistema intestinal nunca se había enfrentado antes (Rinninella et al., 2022). Por ello, cambios pequeños como la eliminación del gluten de la dieta es suficiente para provocar alteraciones, tal como lo mencionan Krupa-Kozak y Drabińska (2022), en donde este tipo de dieta provocó la disminución de *Bifidobacterium* spp., *Clostridium lituseburense* y *Fecalibacterium prausnitzii*, mientras que *Escherichia coli* y *Enterobacteriaceae* aumentaron significativamente.

De acuerdo con García-Gutiérrez y Sayavedra (2021) la dieta occidental, caracterizada por el consumo excesivo de carnes rojas, alimentos procesados, rica en grasas y glúcidos, se ha relacionado con el aumento en la prevalencia de trastornos metabólicos, deterioro cognitivo, depresión, ansiedad y estrés crónico.

¹⁴ La dextrosa es otro nombre para la glucosa, como levulosa para la fructosa

Los estudios en modelos humanos y animales han demostrado que las dietas ricas en grasas (por ejemplo, la dieta occidental en la que los lípidos representan aproximadamente el 30-35% de la ingesta total de energía) provocan disbiosis microbiana intestinal, alterando la composición de la comunidad y reduciendo su diversidad (Constantini et al., 2022). En cuanto a la microbiota intestinal, la dieta del tipo occidental es capaz de provocar la reducción de bacterias pertenecientes al filo Bacteroidetes y favorecer el incremento en las proporciones del filo Firmicutes y Proteobacteria.

En sus estudios, Carmody et al. (2015) alimentaron dos grupos de ratones de diferentes cepas con distintas dietas: Una baja en grasas y rica en polisacáridos vegetales (*LFPP*) y otra rica en grasas y glúcidos (sacarosa) (*HFHS*). Los resultados mostraron que el consumo de la dieta *HFHS* modificó la microbiota intestinal de las cinco cepas de ratones, disminuyendo la abundancia relativa de Bacteroidetes y aumentando significativamente la abundancia relativa de Firmicutes y Verrucomicrobia (Carmody et al., 2015).

De manera similar, Guo et al. (2017), encontraron que después de ocho semanas de alimentación, con una dieta rica en grasas (*HF*), la masa de los ratones macho de la cepa C57NL/6 aumentó en un 20.3% en comparación con el grupo control. A las 16 semanas el incremento de masa representó el 43.0%. En cuanto a la microbiota intestinal, se observó un aumento de Firmicutes y la disminución de Bacteroidetes luego de ocho semanas de consumo de la dieta *HF*, pero sin cambios al cabo de 12-16 semanas. A nivel de género, se observó un patrón similar: La microbiota intestinal se alteró después de 8 semanas de alimentación con *HF*, pero no se observaron más cambios significativos en la composición microbiana (Guo et al., 2017). Aquellos ratones que se alimentaron con la dieta *HF* tuvieron mayor abundancia del género *Lactobacillus* y menor abundancia de *Turicibacter*, *Prevotella*, *Bacteroides* y *Bifidobacteria*.

En los estudios de Liu et al. (2021c), realizados con ratones C57BL/6, demostraron los efectos del consumo de dietas ricas en grasas sobre el estrés oxidativo, metabolismo de lípidos y alteraciones sobre la microbiota intestinal. De acuerdo con los autores, después de 12 semanas de alimentar a los ratones con

distintos tipos de dietas (dieta normal y dieta rica en grasas, aceite de oliva, manteca de cerdo y aceite de soya), se observaron diferencias significativas entre los grupos alimentados con una dieta rica en grasas (manteca de cerdo) al ser comparadas contra el grupo control. En cuanto a la riqueza de bacterias, se encontró menor riqueza en los tres grupos alimentados con la dieta rica en grasas con respecto del grupo control, siendo el grupo alimentado con manteca de cerdo el de menor riqueza y diversidad bacteriana entre los tres. Específicamente se observó una disminución de Bacteroidetes, Proteobacteria, *Bailli*, *Lactobacillales*, *Peptococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Enterococcaceas*, mientras que Actinobacteria y Corobacteria tuvieron niveles más altos. En términos de filo, las abundancias relativas de Firmicutes en los cuatro grupos fueron similares, mientras que las abundancias de Bacteroidetes en los grupos control y el grupo alimentado con aceite de soya fueron mayores que las de los grupos alimentados con manteca de cerdo y aceite de oliva (Liu et al., 2021c).

La dieta occidental promueve un estado patológico de la microbiota, lo que lleva a un aumento en la relación Firmicutes/Bacteroidetes, que puede ser atenuada por la dieta mediterránea a medida que aumenta la producción de bacterias favorables y sus metabolitos (García-Montero et al., 2021). La dieta mediterránea generalmente se considera como un patrón dietético saludable. Se caracteriza por el consumo de cereales (preferiblemente en forma integral), legumbres, frutos secos, verduras y frutas, pescado o marisco, carnes blancas y huevos. Se ha estudiado que la ingesta de este tipo de alimentos provoca un aumento en la abundancia de taxones relacionados con resultados beneficiosos para la salud y una reducción de los biomarcadores inflamatorios (García-Gutiérrez y Sayavedra, 2021; Shively et al., 2018). Según Tsigalou et al. (2021), la dieta mediterránea se ha asociado con una menor prevalencia de enfermedades cardiovasculares, diabetes tipo II, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Crohn, inflamación de bajo grado, síndrome metabólico y obesidad.

El estudio de los cambios en la microbiota intestinal humana ha sido ampliamente investigada. En el estudio de De Filippo et al. (2010) realizados con

niños de dos distintas regiones geográficas (Europa y África), demostraron el efecto de la dieta sobre la microbiota intestinal. La dieta de los niños de África se caracterizó por ser rica en cereales, legumbres, verduras, con un alto contenido de carbohidratos, fibra y proteína no animal, mientras que la dieta de los niños de Europa se caracterizó por ser rica en proteínas de origen animal, glúcidos, almidones y lípidos, eliminando casi en su totalidad el contenido de fibra. En cuanto a las proporciones de los filos, se encontró una menor proporción de Actinobacterias y Bacteroidetes en la microbiota infantil de los niños europeos con respecto de los africanos. Mientras que los filos Firmicutes y Proteobacteria se encontraron en mayor proporción en los europeos que en los africanos. En cuanto a los géneros presentes en la microbiota intestinal, se identificaron *Xylanibacter*, *Prevotella*, *Butyrivibrio* y *Treponema* solamente en los niños africanos y se encontraron géneros bacterianos relacionados con la biotransformación y síntesis de ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Es de destacar que los niños africanos tuvieron una cantidad significativamente mayor de AGCC en comparación con los niños europeos (De Filippo et al., 2010), especialmente en los ácidos propiónico y butírico, relacionados con la protección y sustrato de enterocitos.

Como se ha revisado, la microbiota intestinal está en función de distintas variables y una de las variables de mayor importancia es la dieta. Autores como David et al. (2013) han sugerido que estos cambios en la microbiota intestinal asociados con la dieta, pueden ocurrir dentro de las primeras 24 horas luego del cambio en el régimen alimenticio en modelos murinos, mientras que en otros modelos, como el humano, los cambios podrían reflejarse en días o incluso semanas, dependiendo de la dieta y de las múltiples variables antes mencionadas.

4.7. Microbiota intestinal y edulcorantes

Estudios que datan de la década de 1980, utilizando cultivos bacterianos, han informado sobre asociaciones entre edulcorantes bajos en calorías y alteraciones en la composición bacteriana. Dichos estudios, comenzaron después de un siglo de que la sacarina fue descubierta (Daly et al., 2016; Carocho et al., 2017).

Estudios recientes (Bian et al., 2017; Daly et al., 2016; Martínez-Carrillo et al., 2019; Ruiz-Ojeda et al., 2019; Shahriar et al., 2020; Suez et al., 2014) demostraron un desequilibrio causado por los edulcorantes sobre la microbiota, desencadenando con ello enfermedades como el exceso de masa corporal, obesidad y diabetes. Algunos estudios han reportado dichos efectos en concentraciones iguales al valor establecido por la IDA de algunos edulcorantes. De acuerdo con Suez et al. (2014), la mayoría de los edulcorantes atraviesan el tracto gastrointestinal sin ser digeridos, interactuando con la microbiota intestinal, algunos de ellos no son hidrolizados por las enzimas presentes en la saliva y el intestino, por lo que se pueden encontrar en el intestino grueso. Por el contrario, algunos edulcorantes como el aspartame son completamente hidrolizados y absorbidos en el intestino delgado (Figura 14).

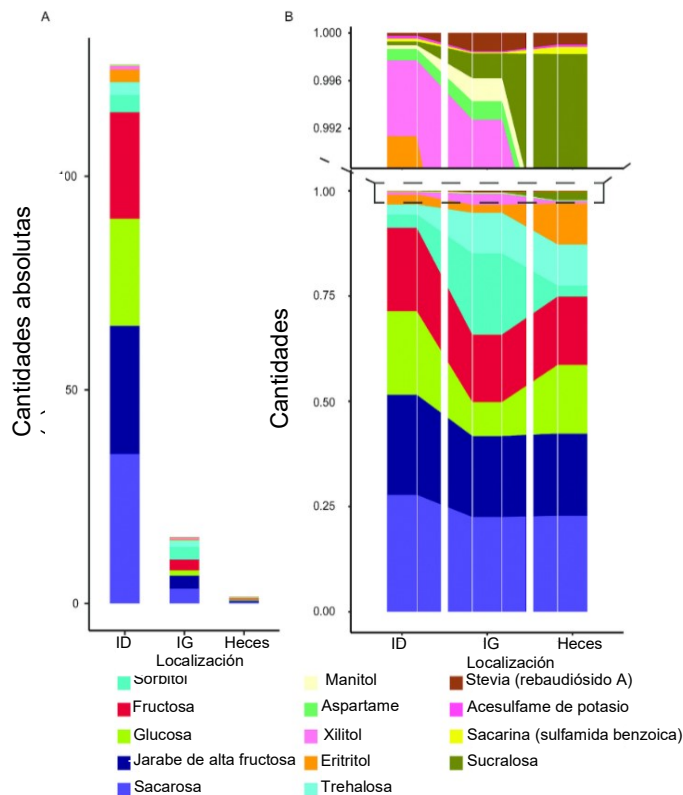


Figura 14. Absorción de algunos edulcorantes en el intestino delgado (ID), intestino grueso (IG) y heces, cantidades absolutas (A) y fraccionarias (B) (Di Rienzi y Britton, 2020)

Por lo tanto, el aspartame como molécula intacta no puede interactuar directamente con la microbiota (Plaza-Díaz et al., 2020). Los estudios de Wang et al. (2018) demostraron la capacidad bacteriostática de algunos edulcorantes como la sucralosa sobre *E. coli* HB101 en modelos *in vitro*. En dichos estudios se observó la reducción de colonias del 30% en placas que contenían un 1.25% de sucralosa/agar LB (m/v) y una reducción de colonias del 74% en placas con un 2.5% de sucralosa/agar LB (m/v) (Wang et al., 2018). Del mismo modo, este edulcorante redujo el tamaño de las colonias (Figura 15) de manera directamente proporcional a la concentración del aditivo usado en un 22 y 77% en las placas tratadas con 1.25 y 2.5% de sucralosa, respectivamente (Wang et al., 2018).

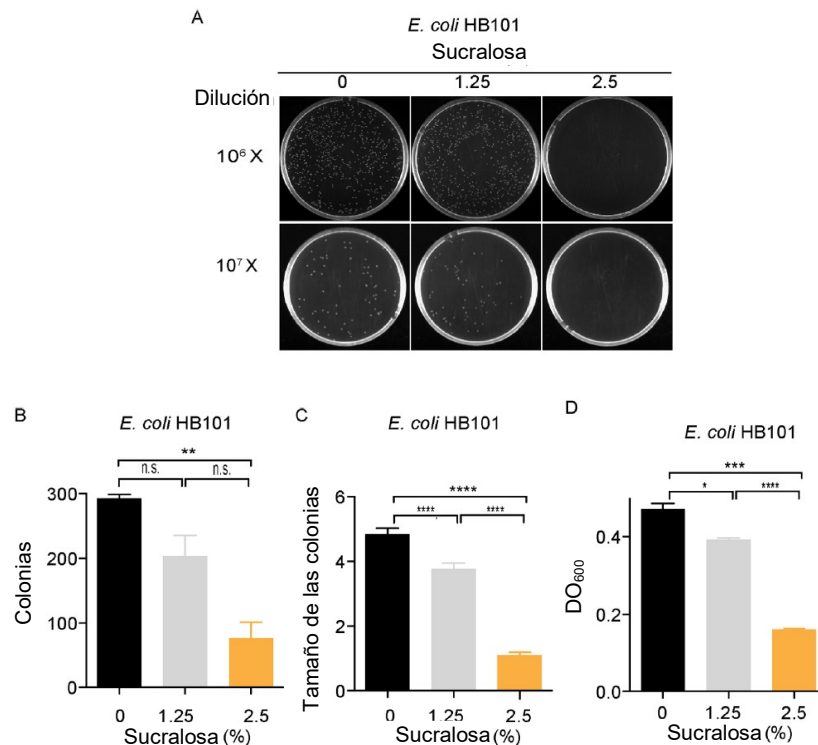


Figura 15. Crecimiento de *E. coli* HB101 en medio con sucralosa. (A) Crecimiento de *E. coli* HB 101 en agar LB a distintas concentraciones de sucralosa. B) Número de colonias de *E. coli* HB 101 luego de haber sido incubada a 37°C / 24 h. C) Tamaño de las colonias de *E. coli* HB 101 al término de la incubación. D) Densidad óptica de crecimiento de *E. coli* HB 101 en medio líquido medido (Wang et al., 2018)

En cuanto al crecimiento en un medio líquido, el crecimiento de *E. coli* HB101 fue inhibido en un 17% y en un 66% correspondientes al 1.25 y 2.5% de sucralosa (m/v), respectivamente (Wang et al., 2018).

Además de la sucralosa, se evaluó el efecto del acesulfame de K (2.5% m/v) y de la sacarina (2.5% p/v) sobre *E. coli* HB101 y *E. coli* K-12. Los resultados mostraron un mayor efecto inhibitorio en el crecimiento sobre la cepa de *E. coli* K-12 en un 98% (acesulfame K) y 99.5% (sacarina) contra un 90% (acesulfame de K) y de 98% (sacarina), siendo estos últimos datos correspondientes a la cepa de *E. coli* HB101. Por el contrario, medios de cultivo con concentraciones isoosmolares¹⁵ de sacarosa y cloruro de sodio no vieron comprometido significativamente el crecimiento en los medios líquidos, como lo demuestra la Figura 16.

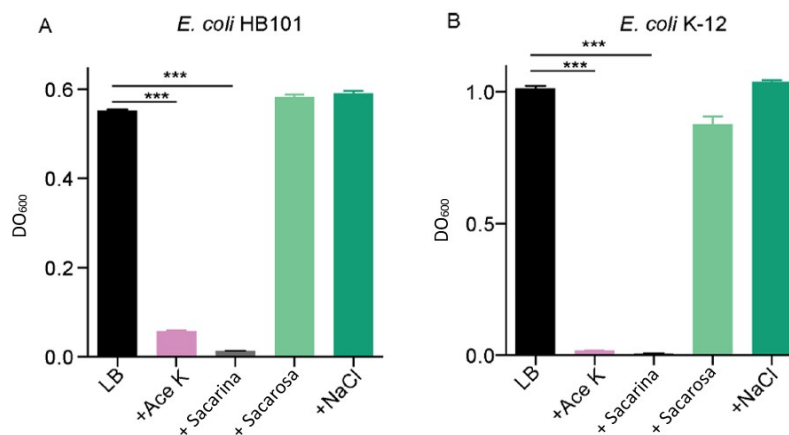


Figura 16. Medios de cultivo adicionados con acesulfame K, sacarina, sacarosa y cloruro de sodio. A) Crecimiento de *E. coli* HB 101 y B) Crecimiento de *E. coli* K-12, luego de haber sido incubados a 37°C / 5 h /220 rpm, medio líquido LB (Wang et al., 2018)

Adicionalmente, se evaluó el efecto del rebaudiósido A (2.5% p/v) sobre las cepas de *E. coli* antes mencionadas. En este ensayo el rebaudiósido A disminuyó en un 83% las colonias de *E. coli* HB101 pero sin cambios sobre las colonias de *E. coli* K-12 (Wang et al., 2018) como se visualiza en la Figura 17.

¹⁵ Concentración similar a la fisiológica

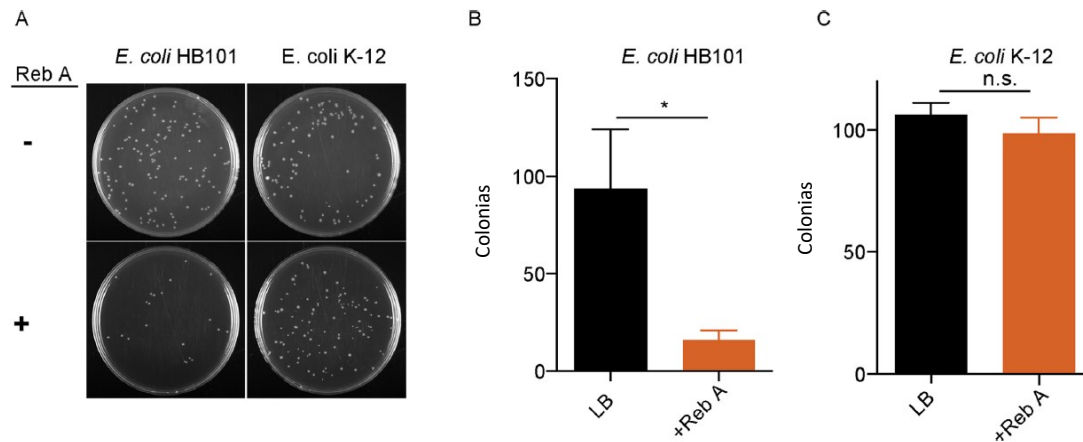


Figura 17. Crecimiento de *E. coli* HB101 y *E. coli* K-12 en medios con rebaudiósido A (Wang et al., 2018)

De acuerdo con Shahriar et al. (2020), después de haber incubado *E. coli* K-12 en medio LB que contenía acesulfame de potasio (6 mg/mL), aspartame (6 mg/mL) y sucralosa (6 mg/mL) durante cinco horas (37°C/135 rpm), encontraron diferencias en el crecimiento luego de dos horas y media. Después de este tiempo, la presencia de aspartame y sucralosa inhibió el crecimiento de *E. coli* en comparación con el control (Shahriar et al., 2020). Al cabo de tres horas y media, el medio con sucralosa disminuyó el efecto inhibitorio y después de cinco horas el crecimiento no presentó diferencias en comparación con el grupo control. Curiosamente el acesulfame de potasio favoreció el crecimiento de *E. coli* K-12 en las primeras dos horas y media de incubación, mientras que el aspartame continuó inhibiendo el crecimiento bacteriano durante el resto del período de incubación (Shahriar et al., 2020).

El complejo sistema dinámico de microorganismos se encuentra continuamente en competencia por los nutrientes, incluso algunos de ellos viven en simbiosis con otros microorganismos presentes en el microbioma. De acuerdo con Conway y Cohen (2015), algunas especies de *E. coli* habitan en simbiosis con microorganismos anaerobios puesto que *E. coli* es incapaz de hidrolizar oligo y polisacáridos. Por otro lado, estas especies de microorganismos anaerobios (*Bacteroides thetaiotaomicron*, por ejemplo), hidrolizan polisacáridos aprovechando los oligosacáridos como sustrato, mientras que *E. coli* usa los mono

y disacáridos sobrantes para su metabolismo. La hipótesis del restaurante sostiene la existencia de microambientes en donde *E. coli* habita en simbiosis con anaerobios, donde se le llama “restaurantes” a las biopelículas mixtas que alimentan las cepas de *E. coli* planteando la hipótesis de que diferentes cepas comensales de *E. coli* residen en diferentes “restaurantes” que interactúan física y metabólicamente con diferentes microorganismos anaerobios (Conway y Cohen, 2015). Para utilizar mejor cada microambiente, el mismo microorganismo puede requerir diferentes adaptaciones regulatorias, metabólicas y genéticas (Di Rienzi y Britton, 2020) como se aprecia en la Figura 18. En ella, de izquierda a derecha se observa: Microbiota sana, microbiota intestinal con cambios transcripcionales, microbiota intestinal con cambios composicionales y microbiota intestinal con cambios genéticos (Di Rienzi y Britton, 2020).

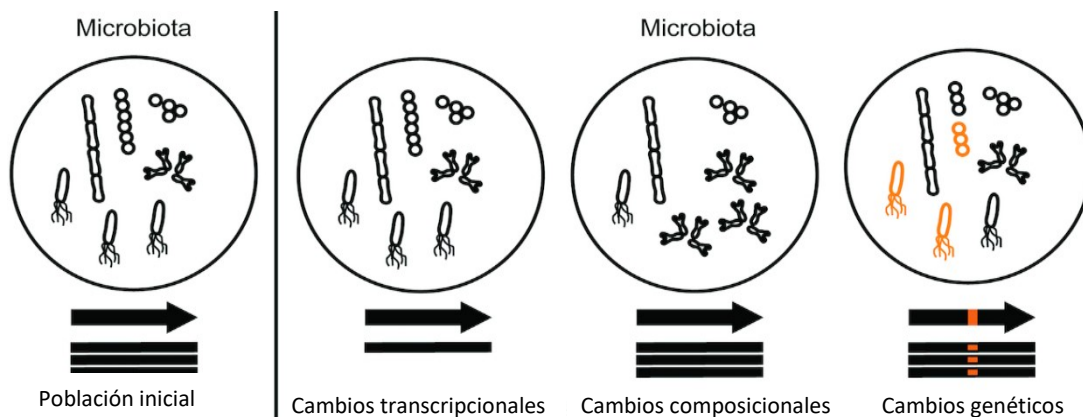


Figura 18. Cambios en la microbiota intestinal provocados por el consumo de edulcorantes (Di Renzi y Britton, 2020)

Como lo mencionan Di Rienzi y Britton (2020), el cambio transcripcional de la microbiota intestinal se refiere a la capacidad de la microbiota intestinal a utilizar recursos metabólicos regulados por la presencia exógena de nutrientes. Los microorganismos pueden regular diferencialmente sus redes metabólicas para adaptarse a microambientes alterados a través de la represión de catabolitos u otras vías reguladoras (Di Rienzi y Britton, 2020). Los cambios composicionales hacen referencia al grupo de bacterias presentes en un microambiente favorable, ya que entre mejores y en mayor cantidad se encuentren los nutrientes, habrá

una presencia mayor de microorganismos. Debido a que la distribución de nutrientes a lo largo de los intestinos delgado y grueso no resulta homogénea, la distribución de los microorganismos tampoco lo es. De esta manera, se forman microambientes en donde las condiciones del microbioma favorecen el desarrollo de microorganismos capaces de emplear los nutrientes como sustrato y adaptarse a las condiciones físicas y químicas. La exposición microbiana a glúcidos y edulcorantes varía a lo largo del tracto intestinal como resultado de la facilidad con la que el huésped absorbe cada glúcido (Di Rienzi y Britton, 2020).

Finalmente, los cambios genéticos ocurren cuando un microorganismo muestra un fenotipo distinto al de sus antecesores, favoreciendo la diversificación y adaptación a nuevos sustratos. Por ejemplo, Shahriar et al. (2020) demostraron en un modelo *in vitro* los cambios en la expresión de genes de *E. coli* K-12 en donde las expresiones de cinco de nueve enzimas reguladoras se alteraron significativamente por el acesulfame K. Los genes alterados se relacionaron con la síntesis de ácidos grasos, síntesis de aminoácidos, ruta de las pentosas fosfato, glicólisis, glucólisis, metabolismo de fructosa, manosa, galactosa y degradación del ARN.

El consumo de algunos aditivos alimentarios como los edulcorantes, gomas, conservadores, colorantes y aceites esenciales han demostrado ser capaces de modificar el microbioma intestinal (Carocho et al., 2017).

La sacarina es uno de los edulcorantes más ampliamente estudiados. En los estudios de Suez et al. (2014) emplearon dicho aditivo para estudiar su efecto en la microbiota intestinal de ratones y humanos. Los edulcorantes de mesa actuales se componen de aproximadamente 95% de glucosa y apenas el 5% correspondiente al sustituto de azúcar puro. Suez et al. (2014) usaron una dosis equivalente al valor de IDA en humanos de 5 mg/kg de masa corporal en una fórmula de sacarina pura, la microbiota de los ratones consumidores de sacarina mostraron una disbiosis considerable, con más de 40 unidades taxonómicas operativas (OTU) significativamente alteradas en abundancia (Suez et al., 2014). Los grupos de bacteroides y clostridiales fueron los que aumentaron en abundancia relativa. Además de realizar estas pruebas, Suez et al. (2014)

realizaron trasplantes fecales de ratones que habían consumido sacarina a “ratones libres de gérmenes” (*germ-free*). En estos últimos organismos se encontraron resultados similares a los obtenidos en los ratones que habían consumido originalmente dicho aditivo. Resultados similares fueron obtenidos en dietas ricas en lípidos, demostrando que el consumo de sacarina en diversas formulaciones, dosis y dietas inducen a una disbiosis con configuraciones generales similares (Suez et al., 2014).

De manera similar, Bian et al. (2017) demostraron que el consumo de sacarina (0.3 g/mL, con una concentración equivalente al valor de IDA en humanos) durante 3 meses fueron capaces de modificar la composición de su microbiota intestinal. Durante los primeros tres meses del consumo de sacarina, los géneros *Sporosarcina*, *Jeotgalicoccus*, *Akkermansia*, *Oscillospira* y *Corynebacterium* aumentaron significativamente (Bian et al., 2017), mientras que *Anaerostipes* y *Ruminococcus* presentaron una disminución significativa. Luego de seis meses de ingerir sacarina las cepas de *Corynebacterium*, *Roseburia* y *Turicibacter* aumentaron, mientras que las de *Ruminococcus*, *Adlercreutzia* y *Dorea* disminuyeron significativamente. Cabe mencionar que la mayoría de los estudios antes revisados investigaron los efectos de sustitutos del azúcar en ambientes controlados, con una dieta estandarizada y con mínimas variaciones (Anexo I). Sin embargo, en modelos humanos y en la vida diaria, estos parámetros no siempre se consiguen, además de que el consumo de edulcorantes no siempre tiene las concentraciones mencionadas en los estudios e incluso existe la posibilidad de generar mezclas de diversos sustitutos de azúcar y otros aditivos alimentarios.

4.8. Microbiota intestinal y estado fisiológico

La microbiota intestinal constituye una de las partes más complejas del tracto gastrointestinal. No solamente se encarga de completar la digestión y absorción de nutrientes, agua y electrolitos, sino que representa la principal superficie de contacto con agentes externos como las bacterias. De estos agentes, el tracto

gastrointestinal deberá identificar, censar y discernir entre las bacterias patógenas y las simbióticas. Los avances tecnológicos actuales demuestran formas interesantes en que los microorganismos influyen en la salud humana. Uno de los principales impactos de la microbiota sobre los mamíferos es su efecto sobre el sistema inmunológico (Gouba et al., 2019). Comprender la diafonía¹⁶ entre el sistema inmunológico y el microbioma es crucial para definir los efectos directos e indirectos de la inmunidad del huésped en las enfermedades provocadas por la disbiosis (Levy et al., 2017). Los cambios en el microbioma temprano se encuentran relacionados con enfermedades inflamatorias como el asma, las alergias y el padecimiento de obesidad (Nash et al., 2017). Para la perfecta homeostasis, el sistema tiene que distinguir claramente entre los agentes patógenos o agentes patógenos potenciales y los microbios comensales que se encuentran en simbiosis con el anfitrión (Guarner, 2007).

Las interacciones entre la microbiota y las células del sistema inmune innato se producen a través de receptores de reconocimiento de patrones moleculares microbianos o de metabolitos producidos por la microbiota (Álvarez et al., 2021). La homeostasis intestinal se mantiene mediante un sistema de controles y equilibrios entre las células *Th1*¹⁷ (CD4+ y CD8+ que migran al epitelio convirtiéndose en linfocitos intraepiteliales) y las células *Th17*¹⁸ y las células T reguladoras *Foxp3*+ antiinflamatorias (*Tregs*) que participan en el desarrollo de tolerancia (Álvarez et al., 2021). En condiciones normales, la mucosa intestinal contiene pocas células T activadas del fenotipo *Th1*, predominando sobre las células T reguladoras. Este contexto de inmunotolerancia permite la exposición continua a una carga antigénica abrumadora (bacterias de la microbiota, comida, etc.), sin que por ello se desencadenen reacciones inflamatorias que lesionarían al tejido intestinal propio (Guarner, 2007).

¹⁶ Ver Glosario para la definición de diafonía biológica

¹⁷ Los linfocitos *Th1* (*T helper 1*) son un tipo de linfocitos T que participan en la producción de citoquinas, especialmente IL-2 e IFN- γ

¹⁸ Las células *Th17* (*T helper 17*) son linfocitos encargados de eliminar microorganismos patógenos como hongos y micobacterias, participan en la liberación de IL-17, IL-21 e IL-22

Una definición común de disbiosis se describe como una alteración composicional y funcional en la microbiota que la conduce a cambios en el ambiente y factores relacionados con el huésped que perturban el ecosistema microbiano en un grado que excede sus capacidades de resistencia y resiliencia (Levy et al., 2017). La activación de los mecanismos de defensa dependerá en primer lugar del reconocimiento rápido de riesgo a través de los receptores innatos o pre-formados que detectan componentes estructurales comunes a bacterias o virus, pero ausentes en las células eucariotas (Guarner, 2007). El intestino, como otras partes del tracto digestivo está compuesto de muchas capas, las cuales en orden del interior hacia el exterior son: Mucosa, tela submucosa, túnica muscularis y túnica serosa. La mucosa del intestino delgado está compuesta por un epitelio columnar simple y lámina propia (Navarro et al., 2017). En estudios recientes Álvarez et al. (2021) señalan que el tracto gastrointestinal funciona como una barrera compuesta mayormente por enterocitos (90-95%), células enteroendocrinas, células caliciformes, células M y células de Paneth como se aprecia en la Figura 19. La función principal de los enterocitos es la absorción de nutrientes hacia el interior de la circulación, mientras que las células enteroendocrinas se encargan de la secreción de hormonas involucradas con el metabolismo y motilidad del intestino. Las células caliciformes son las encargadas de la secreción de glicoproteínas de mucina, las cuales forman una bicapa de moco que protege al intestino contra microorganismos patógenos. De manera similar, las células M tienen la importante función de capturar antígenos luminales y las células de Paneth secretan péptidos antimicrobianos hacia la luz intestinal. De esta forma, diversas células funcionan como un solo sistema para impedir la invasión por bacterias patógenas. De acuerdo con Álvarez et al. (2021), las células dendríticas se encargan del reconocimiento y captura de algunas bacterias para, posteriormente, interactuar con células B y T presentes en la placa de Peyer. De esta forma, se activa la producción de algunas inmunoglobulinas como la IgA específicas para bacterias, virus y toxinas. Por otro lado, en la lámina propia, los macrófagos fagocitan y eliminan los microorganismos que hubieran penetrado a través del epitelio intestinal (Álvarez et al., 2021).

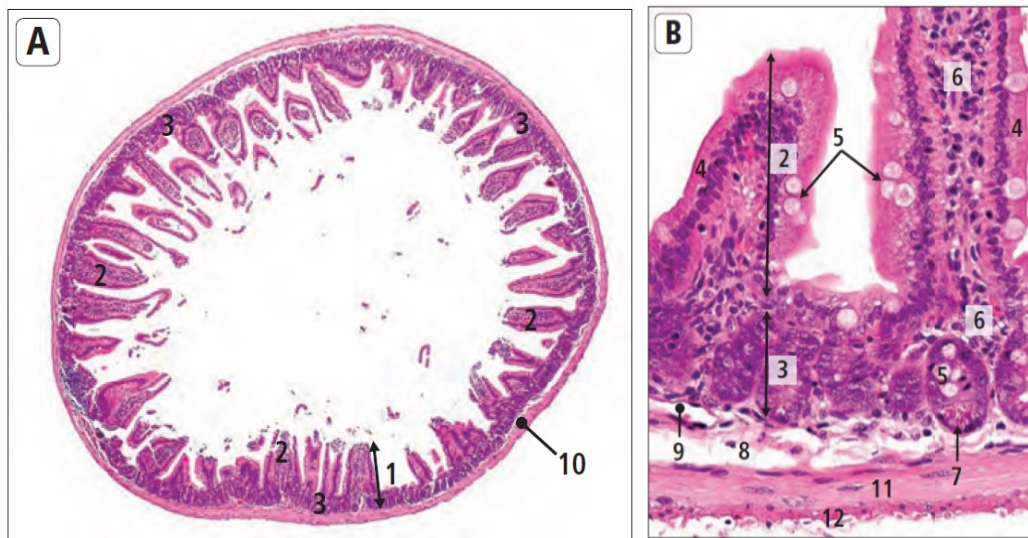


Figura 19. Capas del intestino. A) Corte transverso de yeyuno, B) Estructura de la pared intestinal. 1. Túnica mucosa, 2. Vellosidades intestinales, 3. Glándulas intestinales, 4. Células epiteliales intestinales (enterocitos), 5. Células caliciformes de la mucosa, 6. Lámina propia, 7. Células de Paneth, 8. Tela submucosa, 9. Plexo vascular submucoso, 10. Túnica muscularis, 11. Capa circular (túnica muscularis), 12. Capa longitudinal (túnica muscularis) (Navarro et al., 2017)

Desde el inicio de la “era moderna” a principios del siglo XIX, caracterizada por el aumento de la urbanización, una atención progresiva a la higiene personal y mejores condiciones socioeconómicas han desencadenado el aumento en las enfermedades inmunorreguladoras (Murdaca et al., 2021). La hipótesis de la higiene tiene su origen en 1989 cuando Strachan estudió la relación de la fiebre del heno y el número de hermanos que habitaban en casa, suponiendo que más niños en casa significaban más gérmenes compartidos. Strachan (1989), sugirió que las infecciones de la primera infancia protegían contra las enfermedades alérgicas (Murdaca et al., 2021). En el artículo de Strachan (1989), *Hay fever, hygiene, and household size*, se menciona que de los 16 factores perinatales, sociales y ambientales estudiados las asociaciones más llamativas con la fiebre del heno fueron las relacionadas con el tamaño de la familia y la posición en el hogar durante la infancia.

El desarrollo y consecuencias sobre el crecimiento de un organismo en un medio libre de microorganismos (*germ-free*) ha sido estudiado y documentado claramente (Álvarez et al., 2021; Gouba et al., 2019; Hooper et al., 2012; Icaza-Chávez, 2013; Levy et al., 2017). Las primeras comparaciones de ratones “libres de gérmenes” y colonizados revelaron un profundo efecto sobre la colonización microbiana en la formación de tejidos linfoides y el desarrollo subsiguiente del sistema inmunológico (Hooper et al., 2012). Adicionalmente, de las alteraciones sobre el sistema inmunológico existen otras alteraciones fisiológicas y anatómicas como las que señala Uzbay (2019). Entre dichas alteraciones se encuentran: Una menor masa corporal, crecimiento anormal del ciego, menor desarrollo del intestino delgado, movimientos peristálticos más lentos, vellosidades irregulares y una menor renovación de las células epiteliales. Por ello, la capacidad de los animales “libres de gérmenes” para utilizar los nutrientes se ve comprometida (Uzbay, 2019). De acuerdo con Álvarez et al. (2021), el desarrollo del sistema inmune se ve favorecido gracias a la exposición temprana y regulada por microorganismos inofensivos, los cuales son microorganismos que han estado presentes a lo largo de la evolución humana y son capaces de preparar al sistema inmune para una correcta función y reacción ante varios estímulos. Por el contrario, la exposición temprana a microorganismos patógenos pudiera resultar en un desarrollo no favorable del sistema inmune.

Los principales factores capaces de alterar el estado fisiológico son: La microbiota intestinal y la dieta. La disbiosis de la microbiota intestinal se ha asociado con un número creciente de enfermedades, que incluyen obesidad, diabetes, enfermedad inflamatoria intestinal, asma, alergia, cáncer e incluso trastornos neurológicos o del comportamiento (Ximenez y Torres, 2017). Mientras que la dieta se ha relacionado con enfermedades metabólicas, enfermedades no transmisibles como el exceso de masa corporal, obesidad y diabetes (Icaza-Chávez, 2013).

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) abarca un amplio grupo de afecciones con disbiosis mediada inmunológicamente subyacente e inflamación intestinal severa, siendo las dos formas principales la colitis ulcerosa (CU,

inflamación restringida al recto y colon) y la enfermedad de Crohn (EC, inflamación en cualquier parte del intestino) (Glibetic et al., 2022). Algunos otros trastornos del tracto gastrointestinal como el síndrome del intestino irritable (SII) y cáncer colorrectal también se encuentran asociados a los cambios en la microbiota intestinal (Krga y Glibetic, 2021), siendo el síndrome del intestino irritable (SII) el trastorno funcional digestivo más común entre la población.

La enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa se caracterizan por generar respuestas inmunes adaptativas desreguladas a la microbiota en individuos genéticamente susceptibles (Alexander et al., 2021). La enfermedad de Crohn se caracteriza por una inflamación granulomatosa focal del tubo digestivo¹⁹, que por lo general evoluciona de una forma crónica más o menos rápida hacia fibrosis estenosante²⁰, abscesos y fístulas²¹ (Marteau et al., 2019). A diferencia de otras enfermedades intestinales, puede afectar cualquier parte del tracto gastrointestinal y recientemente se ha relacionado con la microbiota intestinal debido a la presencia aumentada de anticuerpos frente a componentes microbianos (anticuerpos anti-*Saccharomyces cerevisiae*, anticuerpos contra la porina C de la membrana externa de *Escherichia coli*, anticuerpos antiflagelina o antiglucanos) (Ballester-Ferré et al., 2018).

Por el contrario, el síndrome de intestino irritable (SII) es caracterizado por síntomas abdominales crónicos y movimientos intestinales irregulares sin explicación estructural o anatómica (Ramírez y Villanueva, 2013). Un metaanálisis que se realizó en 13 estudios hasta 2016, había demostrado que existían diferencias significativas en la expresión de pacientes con SII en comparación con controles sanos para *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Faecalibacterium prausnitzii* (Chong et al., 2019). De acuerdo con De-Arce et al. (2021), se han reportado evidencias de alteraciones en la composición y densidad microbiana, en donde

¹⁹ Inflamación relacionada con necrosis, caracterizada por la acumulación de macrófagos activados y linfocitos T

²⁰ Fibrosis caracterizada por el estrechamiento del tracto intestinal dificultando el paso de los alimentos

²¹ Conexión anormal entre dos partes del cuerpo, en el caso de pacientes con la enfermedad de Crohn las fístulas pueden ser del tipo perianal

prevalecen las bacterias proinflamatorias como *Enterobacteriaceae* y proporciones menores de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, así como cambios en la relación Firmicutes/Bacteroidetes cuando fueron comparados con controles sanos.

4.8.1. Exceso de masa corporal y obesidad

El exceso de masa corporal y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud (OMS, 2021). De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el índice de masa corporal (IMC) es un indicador simple de la relación entre la masa del individuo y la talla (kg/m^2), usado comúnmente para identificar este exceso, comúnmente denominado “sobrepeso”. La obesidad se encuentra asociada con un grupo de trastornos metabólicos y sistémicos, tales como resistencia a la insulina, diabetes *mellitus* tipo II, hígado graso no alcohólico, aterosclerosis e hipertensión (Devaraj et al., 2013).

El exceso de masa corporal se considera con un valor de IMC igual o mayor a 25, mientras que un valor igual o mayor a 30, es sinónimo de obesidad. El IMC, según la OMS, proporciona la medida más útil del exceso de masa y la obesidad en la población pues es la misma para ambos sexos y para los adultos de todas las edades (OMS, 2021).

Hay, sin embargo, al menos una opinión contraria (Nuttall, 2015). Esta última sustentada en bases sólidas por lo que este IMC no debiera tomarse como referencia por los gobiernos como ocurrió en México. De acuerdo con Nuttall (2015), el IMC como indicador no discrimina entre personas con una gran cantidad de masa magra corporal y poca masa grasa corporal de otra persona que, por el contrario, tiene una pequeña cantidad de masa magra corporal y una gran cantidad de masa grasa corporal.

Además de esta limitación, el IMC no aporta información sobre la ubicación de la grasa corporal; la acumulación de grasa en la parte superior del cuerpo respecto a la parte inferior del cuerpo se ha asociado con mayor riesgo de enfermedad coronaria, diabetes mellitus, cálculos biliares y gota (Nuttall, 2015). Como se ha revisado, la cantidad de masa corporal y la talla de un individuo no

son variables suficientes para la elaboración de un indicador de obesidad y otras enfermedades no transmisibles. Algunos de las variables de mayor importancia para el correcto diagnóstico de obesidad son: El género, la edad, el grupo étnico y la longitud de las piernas (Nuttall, 2015).

Partiendo de la definición de IMC y sus limitaciones, la Encuesta Nacional de Salud (ENSANUT) 2018, ha estimado que un 10.3% de la población mayor a 20 años de edad tiene un diagnóstico médico previo de diabetes, el 39.1% de la población mayor de 20 años de edad tiene exceso de masa corporal y el 36.1% de esta misma población presenta obesidad, lo cual significa un incremento del 3.9% con respecto al 2012 (INSP, 2018).

Se han propuesto como factores que contribuyen a este padecimiento el aumento de la ingesta energética, la disminución de la actividad física, un gran número de establecimientos de comida rápida, porciones más grandes a las habituales, una mayor disponibilidad de edulcorantes y glúcidos (Anderson et al., 2007). Cabe mencionar que se ha hablado muy poco sobre el posible efecto sinérgico de varios aditivos químicos adicionados a un solo alimento o una sola bebida no alcohólica, como conservadores, colorantes, saborizantes actuando con los edulcorantes en el metabolismo (Durán-Domínguez-de-Bazúa, 2017). Se ha sugerido que la grasa visceral y metabólicamente activa que rodea los órganos provoca una desregulación metabólica que a su vez predispone a enfermedades de diversa índole (Mehrzaad, 2020).

Los sustitutos de azúcar representan una de las opciones más empleadas para reducir la ingesta de calorías. Gracias a su popularidad ahora se encuentran en un gran número de productos y edulcorantes de mesa. Los edulcorantes de alta intensidad han estado disponibles durante 50 años como sustitutos de los glúcidos, pero a pesar del uso cada vez mayor, la obesidad sigue en aumento (Anderson et al., 2007). Con ella vienen muchas enfermedades metabólicas, por lo que deberá continuarse el estudio de estas mezclas de aditivos químicos sobre la microbiota intestinal (Durán-Domínguez-de-Bazúa, 2020).

También el consumo de edulcorantes se ha relacionado con el incremento de masa corporal, de acuerdo con los resultados de De-Mateos et al. (2013), el uso

de sacarina o aspartame promovió una mayor ganancia de masa, en comparación con la sacarosa, y esta ganancia de masa no estuvo relacionada con la ingesta calórica (De-Mateos et al., 2013). Dichos estudios evaluaron el aumento de masa y la ingesta calórica en ratas Wistar macho adultas, Los edulcorantes no nutritivos pudieron inducir el aumento de masa sin contar con un aumento en la ingesta calórica total, lo cual sugiere que otros mecanismos, como la disminución del gasto calórico, puedan ocurrir después del uso de edulcorantes no nutritivos (De-Mateos et al., 2013).

De acuerdo con los recientes estudios de Mendoza-Pérez et al. (2021a), el consumo de edulcorantes se relacionó con el aumento en la masa corporal mediado por alteraciones en la microbiota intestinal provocado por el consumo de dichos aditivos. En esos estudios los autores evaluaron el incremento de masa corporal a lo largo de la vida (infancia, adolescencia, edad adulta joven, edad adulta y vejez) de ratas machos y hembra de la estirpe Wistar, que consumían distintos edulcorantes naturales y artificiales. Los resultados mostraron cambios significativos a partir del inicio de la edad adulta (día 210) hasta la vejez (día 504). Entre los dos grupos de ratas macho y hembra, solamente el grupo de glucosa tuvo una masa significativamente mayor con respecto del grupo control debido a que ingerían una cantidad significativamente mayor basada en la isodulzura (Mendoza-Pérez et al., 2021a). Por otro lado, los grupos de ratas hembra carecieron de diferencias significativas entre todos los grupos de edulcorantes nutritivos y no nutritivos. La ingesta diaria de alimentos presentó diferencias significativas al término de la niñez (día 35); siendo los grupos de ratas macho que consumieron fructosa, sacarosa y glucosa los que presentaron una ingesta menor de alimento en comparación con el grupo control. En contraste, las muestras de los siguientes grupos que ingirieron edulcorantes no nutritivos consumieron significativamente mayor cantidad de alimento que el grupo control: acesulfame K, sacarina y sucralosa (Mendoza-Pérez et al., 2021a). De manera similar a los grupos de ratas macho anteriores, la ingesta de alimento en los grupos de ratas hembra fue menor en los grupos de fructosa, glucosa y sacarosa. Por el contrario, los grupos que bebieron sacarina y sucralosa consumieron mayor contenido de

alimento que el grupo control (Mendoza-Pérez et al., 2021a). De manera semejante, durante la edad adulta (día 210), las ratas macho y hembra presentaron diferencias significativas en la cantidad de alimento que ingirieron. Los grupos de ratas macho que bebieron edulcorantes nutritivos fueron los que consumieron una menor cantidad de alimento frente al grupo control, incluyendo el grupo de glucosa que consumió una menor cantidad de alimento que el grupo control. La tendencia descrita anteriormente también se observó para las ratas hembra (Mendoza-Pérez et al., 2021a).

En cuanto al consumo de bebidas, de manera simplificada, la tendencia en la ingesta de bebidas endulzadas fue contraria a la ingesta de alimentos (Mendoza-Pérez et al., 2021a). Los resultados señalaron que los cambios significativos en cuanto a masa corporal, en ratas macho se dieron al finalizar la edad adulta, mientras que, para las ratas hembra, el consumo de edulcorantes no provocó cambios significativos en la masa corporal en ninguna etapa de la vida. Esto ocurrió porque consumían una dieta balanceada. En esto fueron precisos los autores: Sí y sólo si fueran consumidas las bebidas junto con una dieta balanceada (Mendoza-Pérez et al., 2021a). Con esto se reafirman las repercusiones de la dieta sobre el estado de salud.

De acuerdo con los estudios hechos por Kong et al. (2019), el uso de probióticos ayudó a controlar el incremento de masa en tres grupos de ratones hembra de la cepa C57BL/6J. Uno de los grupos fue alimentado con una dieta rica en grasas (*HFD*), otro grupo fue alimentado con una dieta rica en carbohidratos (*HCD*) y un grupo más se alimentó con una dieta comercial (*ND*). Después de la intervención con probióticos, el aumento de masa corporal en los grupos de *HFD*, *HCD* y *ND* disminuyeron, especialmente en el grupo *HCD* (Kong et al., 2019). Adicionalmente, en los estudios realizados por Turnbaugh et al. (2006), encontraron que los Bacteroidetes aumentaron a medida que las personas obesas perdían masa con una dieta baja en calorías restringida en grasas o carbohidratos (Turnbaugh et al., 2006). Por tanto, las evidencias crecientes sugieren que la microbiota intestinal representa un factor importante que contribuye a la respuesta del huésped hacia los nutrientes. En los mamíferos, un aumento en su masa

corporal y el contenido de grasa podría estar asociado con una modificación en la microbiota, incluso sin factores genéticamente predisponentes o una mayor ingesta de alimentos (Devaraj et al., 2013; Mendoza-Pérez et al., 2021b; Raoult, 2008).

Gracias a las técnicas modernas de identificación descritas anteriormente, hoy en día se conocen algunas de las bacterias más frecuentes en la microbiota intestinal de ratones obesos. En modelos humanos, la relación de Firmicutes/Bacteroidetes ha resultado ser más alta en personas obesas que en personas que no presentan esta enfermedad (Raoult, 2008). Según Ley et al. (2006), la presencia de Bacteroidetes y Firmicutes en el intestino supone una mínima competencia por los recursos ya que el intestino obeso presenta propiedades aún no caracterizadas que inclinan la balanza hacia los Firmicutes. En términos generales, la microbiota intestinal de los sujetos obesos presenta una menor biodiversidad que los sujetos con una masa corporal normal (Gotteland, 2013; Ley et al., 2006). De acuerdo con Gotteland (2013), la disbiosis presente en modelos animales obesos también sería encontrada en modelos animales con diabetes *mellitus* tipo II, pero con menor abundancia de *Bifidobacterium* spp. y de *Faecalibacterium prausnitzii*, los cuales se caracterizan por presentar actividad anti-inflamatoria.

4.8.2. Diabetes y edulcorantes

La diabetes *mellitus* es un trastorno metabólico que resulta de la desregulación de la glucosa (Mejia y Pearlman, 2019). Existen dos tipos de diabetes: Diabetes tipo I y diabetes tipo II. La diabetes tipo I, frecuentemente conocida como diabetes juvenil (debido a que es común entre la población infantil y adulta-joven), es una enfermedad autoinmune en donde las células beta del páncreas son desconocidas y atacadas por el propio sistema inmunológico, por lo que la capacidad de dichas células para producir la hormona insulina se ve comprometida.

A diferencia de la diabetes tipo I, la diabetes tipo II tiene dos condiciones, la primera de ellas es conocida como resistencia a la insulina (recientemente mejor conocido como síndrome metabólico), en donde el cuerpo es incapaz de absorber

la glucosa del torrente sanguíneo desencadenando la producción de cantidades más grandes de insulina para favorecer la entrada de glucosa a las células; mientras que en la segunda, la cantidad de insulina producida por el cuerpo es insuficiente para mantener correctos los niveles de glucosa en el cuerpo (Mejia y Pearlman, 2019).

Como se ha mencionado anteriormente, los sustitutos del azúcar son uno de los aditivos alimentarios más empleados por esta población por su bajo aporte calórico, control del índice glucémico, etc. Sin embargo, la evidencia reciente ha cuestionado la relación de estos aditivos con el desarrollo de diabetes en la población. Estudios epidemiológicos sugieren que los productos que contienen edulcorantes no nutritivos se asocian con un aumento de la adiposidad, diabetes *mellitus* tipo II, síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular. Algunos datos sugieren que pueden tener efectos similares sobre los trastornos metabólicos y la homeostasis de la glucosa en comparación con sus contrapartes de azúcar (Foletto et al., 2016; Mejia y Pearlman, 2019).

De acuerdo con Suez et al. (2014), el consumo de sacarina, sucralosa y aspartame a concentraciones comerciales (aproximadamente 5% del edulcorante puro) en ratones C57BL/6 desarrollaron intolerancia a la glucosa marcada en comparación con grupos alimentados con glucosa o sacarosa después de 11 semanas de experimentación. Debido a que la sacarina fue el edulcorante que desarrolló intolerancia a la glucosa de forma más notable, los autores experimentaron con una dieta rica en grasas y sacarina adicionada en el agua o glucosa adicionada en el agua; los resultados nuevamente mostraron el desarrollo de intolerancia a la glucosa en el grupo que consumió sacarina.

Foletto et al. (2016) usaron un yogur endulzado con sacarina de sodio (0.3% m/m) para estudiar los efectos de este edulcorante en la sensibilidad de la insulina, niveles de leptina en ayunas y los niveles del péptido PYY²² en ratas Wistar macho de aproximadamente 10 semanas de edad. Los resultados, luego

²² Hormona anorexigénica secretada en el intestino; la función principal de esta hormona es inhibir la motilidad gástrica e incrementar la absorción de agua y electrolitos en el intestino grueso

de 14 semanas del experimento, indicaron diferencias significativas en la masa de ratas que consumieron el yogur con sacarina de sodio. La masa de este grupo fue mayor con respecto del grupo control que consumió yogur sin el edulcorante, mientras que las concentraciones séricas en ayunas determinadas al final del periodo de 14 semanas para péptido PYY, leptina, glucosa en sangre e insulina no presentaron diferencias significativas entre grupos (Foletto et al., 2016).

Por otro lado, Greenwood et al. (2014) compararon estudios cohorte de bebidas endulzadas con azúcar y con edulcorantes hipocalóricos, los resultados del metanálisis señalaron la asociación entre el riesgo de desarrollar diabetes tipo II y refrescos endulzados con azúcar y con edulcorantes hipocalóricos, siendo los refrescos endulzados con azúcar los que mostraron una mayor asociación. El aumento de la ingesta de bebidas endulzadas artificialmente también aumentó la incidencia de diabetes tipo II, lo que sugiere un posible mecanismo de resistencia a la insulina con el tiempo (Mathur et al., 2020). Los sustitutos de azúcar son ampliamente usados por personas con diabetes *mellitus* para controlar su índice glucémico. Algunos estudios, como el de Tucker y Tan (2017), han propuesto que los sustitutos de azúcar pueden desencadenar las respuestas fisiológicas de manera similar que los edulcorantes calóricos debido a su interacción con los receptores de gusto dulce, afectando así la homeostasis de la glucosa humana. Se consideraron los efectos de los sustitutos de azúcar hipocalóricos sobre una amplia gama de factores relacionados con la regulación de la glucosa en sangre, como la insulina, el glucagón, las incretinas (*GLP-1* y *GIP*), la tasa de vaciado gástrico y las tasas de absorción de glucosa, así como la liberación de insulina del páncreas que se confunde con glucosa, debido a su sabor dulce (Mathur et al., 2020; Tucker y Tan, 2017).

Como se ha revisado, los resultados con respecto al desarrollo de diabetes y el consumo de sustitutos de azúcar siguen estando poco claros. Estos resultados se pueden atribuir a las diferencias entre los sustitutos de azúcar, las condiciones de experimentación, la dieta empleada, el organismo de prueba y predisposiciones genéticas hacia la diabetes. A pesar de las diferencias entre los resultados, la

reciente evidencia científica ha agregado una nueva variable en el desarrollo de la diabetes: La microbiota intestinal.

4.9. Otras implicaciones derivadas del consumo de edulcorantes en ratas y ratones

Derivado del creciente consumo de edulcorantes, la evidencia científica ha documentado otras implicaciones sobre la salud, por el consumo de edulcorantes. De acuerdo con Palatnik et al. (2020), el consumo de edulcorantes durante el embarazo fue relacionado con una predisposición al sabor dulce, con desregulaciones metabólicas en la descendencia como un índice de masa corporal mayor a lo esperado, un riesgo mayor al desarrollo de la obesidad, disbiosis y una función anormal del hígado. La absorción de los edulcorantes hipocalóricos en el torrente sanguíneo ocurre en el intestino delgado y puede transferirse al feto a través de la placenta y al bebé a través de la leche materna (Palatnik et al., 2020). Muchos de los edulcorantes naturales y artificiales fueron encontrados en circulación inclusive 5 días antes de ser eliminados por el cuerpo como se aprecia en la Figura 20. En modelos animales distintos a los ratones, como pollos de engorda (Jiang et al., 2020), que consumieron dentro de su dieta sacarina (600 mg/kg), sucralosa (100 mg/ kg) y stevia (250 mg/kg), después de 14 días de experimentación se demostró que hubo un aumento de masa corporal y la presencia de cambios en los siguientes órganos: Hígado, timo y el músculo del pecho al compararse con los grupos de aves que consumieron una alimentación normal. Los estudios de la morfología y permeabilidad intestinal mostraron que la suplementación con sacarina de sodio disminuyó notablemente la altura de las vellosidades en el yeyuno de los pollos de engorda en comparación con los otros 3 grupos (Jiang et al., 2020). Los resultados del ensayo de etiquetado del extremo de la desoxiuridina trifosfato terminal medida por desoxinucleotidil transferasa (*TUNEL*)²³ señalaron que la suplementación diaria de sacarina aumentó el número

²³ Ensayo generalmente usado para detectar células apoptóticas; este tipo de ensayo suele usarse para detectar la toxicidad de un fármaco

de células apoptóticas en las vellosidades yeyunales (Jiang et al., 2020), como se observa en la Figura 21.

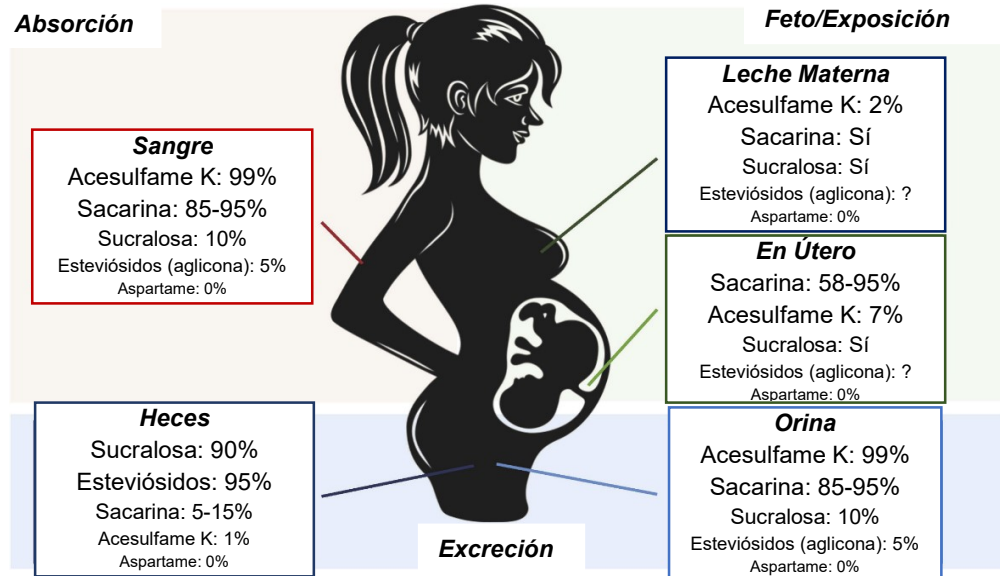


Figura 20. Presencia de edulcorantes en diversos fluidos, heces, leche materna y útero (Palatnik et al., 2020)

La presencia de células apoptóticas pudiera ser explicada gracias a la activación de receptores de sabor amargo en el yeyuno, los cuales tuvieron una fuerte afinidad por la sacarina, induciendo la apoptosis por una cantidad excesiva de Ca^{2+} en el citosol. Dicho estudio también demostró que la suplementación del alimento con sucralosa careció de efectos sobre el crecimiento y las funciones fisiológicas del yeyuno. Por otro lado, la sacarina tuvo repercusiones sobre la integridad del intestino, la permeabilidad y la capa de moco, mientras que la stevia fue el mejor edulcorante para aumentar el crecimiento de los animales. Por otro lado, en estudios realizados por Bian et al. (2017) el consumo de sacarina (0.3 g/mL) en ratones macho C57BL/6J de ocho semanas de edad mostró la elevación de las concentraciones de genes proinflamatorios sintasa inducible de óxido nítrico (*iNOS*)²⁴ y del factor alfa de necrosis tumoral (*TNF- α*)²⁵. Los resultados revelaron

²⁴ Enzima encargada de la conversión de L-arginina a L-citrulina produciendo óxido nítrico; relacionado con enfermedades inflamatorias

que la administración de sacarina durante 6 meses en el agua potable indujo una inflamación elevada en el hígado de ratones, que podría estar asociadas funcionalmente con perturbaciones del microbioma intestinal inducidas por la sacarina (Bian et al., 2017).

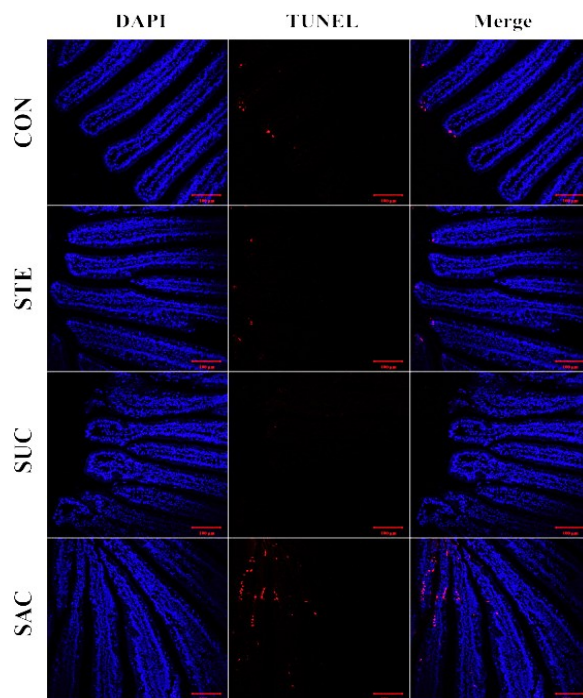


Figura 21. Imágenes obtenidas del ensayo *TUNEL* por inmunofluorescencia. En donde SAC= sacarina, SUC= sucralosa, STE= estevia y CON= grupo control, la coloración roja representan las células apoptóticas del yeyuno, la coloración azul representa el núcleo de las células, observar la columna de enmedio (Jiang et al., 2020)

Adicionalmente a los padecimientos antes señalados, Levy et al. (2017) y otros autores han señalado padecimientos relacionados con un desequilibrio en la microbiota intestinal como se aprecia en la Figura 22. Entre los padecimientos reportados anteriormente, en la literatura se encontraron los siguientes padecimientos relacionados con estudios del consumo de edulcorantes: Estrés (Liu et al., 2021a; Ma et al., 2021; Marcondes-Ávila et al., 2020), depresión (Collyer et al., 2020; Du et al., 2020; Evrensel y Tarhan, 2021; Rao et al., 2021;

²⁵ Regulador de inflamación y formación de granuloma; tiene un papel importante en el desarrollo de enfermedades inflamatorias crónicas

Wang et al., 2021b), autismo (Ding et al., 2020; Lasheras et al., 2021; Wang et al., 2020; Ye et al., 2021), esclerosis múltiple (Boussamet et al., 2021; Castillo-Álvarez et al., 2021; Fettig y Osborne, 2021; Zeraati et al., 2019), asma (Sharma et al., 2019; Zhang et al., 2021), hígado graso no alcohólico (Cortez-Pinto et al., 2016; Duarte et al., 2019; Wu et al., 2021), síndrome metabólico (Hu et al., 2020; Proença et al., 2020), síndrome del intestino irritable (Collyer et al., 2020; Hou et al., 2021; Staudacher et al., 2020), enfermedad celíaca (Olivares y Sanz, 2021; Schiepatti et al., 2021), aterosclerosis (Gui et al., 2021; Hou y Zhao, 2021; Zhao et al., 2020), Enfermedad de Parkinson (Gómez-Eguílaz et al., 2019; Segal et al., 2021; Xue et al., 2020; Zheng et al., 2021), Enfermedad de Alzheimer (Doifode et al., 2020; Qian et al., 2021; Wang et al., 2021a) y artritis reumatoide (Kitamura et al., 2021; Wells et al., 2020).

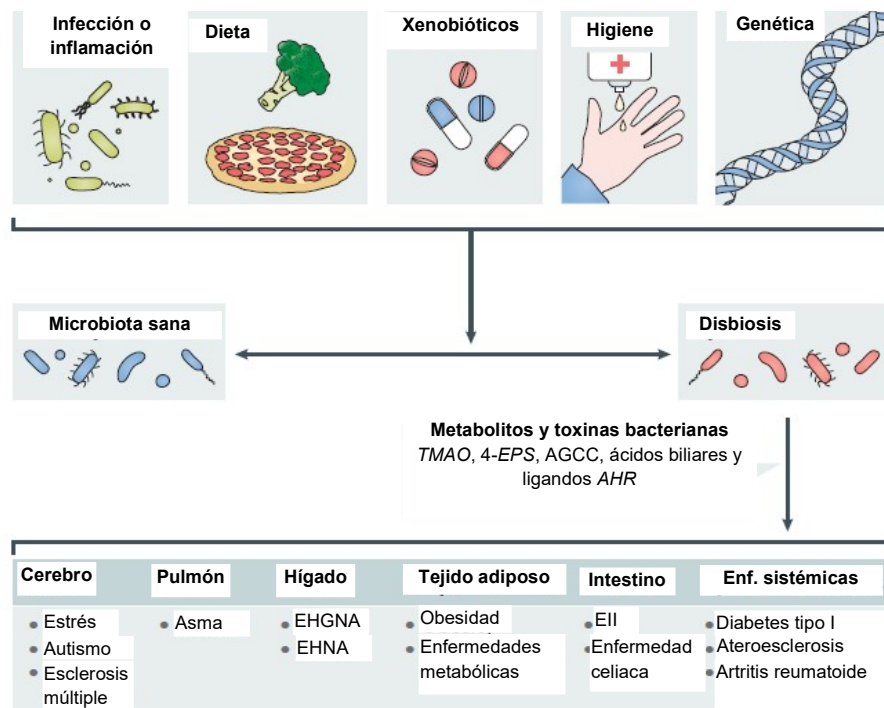


Figura 22. Orígenes de la disbiosis y eubiosis en la microbiota intestinal, metabolitos producto de la disbiosis y enfermedades relacionadas con la disbiosis (Levy et al., 2017) [TMAO: N-óxido de trimetilamina; 4-EPS: 4-etilfenilsulfato; AGCC: Ácidos grasos de cadena corta; ligandos AHR: Receptor de hidrocarburo de arilo; EHGNA: Enfermedad del hígado graso no alcohólico; EHNA: Esteatohepatitis no alcohólica; EII: Enfermedad intestinal inflamatoria]

Capítulo 5

Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

Con base en el objetivo general de la investigación el cual fue el de “Investigar los efectos del consumo de edulcorantes calóricos e hipocalóricos a corto y mediano plazo sobre la microbiota intestinal de ratas y ratones, así como la relación de la disbiosis con enfermedades no transmisibles como exceso de masa corporal, obesidad y diabetes *mellitus*” es posible mencionar las siguientes conclusiones:

- Si bien, los edulcorantes calóricos e hipocalóricos han marcado una nueva etapa en el desarrollo de productos y en la disponibilidad de éstos, la evidencia científica ha demostrado su efecto no deseado sobre la microbiota intestinal en un periodo corto y en uno mediano en especies como ratas y ratones, luego de consumir edulcorantes comerciales tales como sacarina, sucralosa y stevia, entre otros.
- La evidencia científica reporta que algunos de los edulcorantes no nutritivos son incapaces de ser metabolizados por el cuerpo; sin embargo, esto no significa que sean completamente seguros para quien los consume, especialmente por sus interacciones con la microbiota intestinal en donde provocan cambios en su desarrollo y composición.
- Los edulcorantes calóricos e hipocalóricos han demostrado tener repercusión sobre la microbiota intestinal al actuar como agentes biostáticos: Los edulcorantes sucralosa, sacarina, acesulfame K y stevia (rebaudiósido A), por ejemplo, mostraron efectos negativos sobre ciertas cepas de *E. coli*.
- El consumo de edulcorantes debe acompañarse con una dieta correcta, ya que si bien existen mecanismos mediados por la microbiota intestinal para el desarrollo de enfermedades no transmisibles, la dieta es una de las variables de mayor impacto sobre el desarrollo de dichas enfermedades y la composición de la microbiota intestinal. El estado de disbiosis se relaciona con dietas poco

saludables como la dieta occidental, reduciendo Bacteroidetes y llevando a niveles más altos Firmicutes y Proteobacterias. Del mismo modo, cambios en la alimentación son capaces de regresar a la microbiota al estado de eubiosis, mejorando al mismo tiempo la salud del huésped.

- El consumo de sacarina acompañado de una dieta rica en grasas demostró tener repercusiones como la intolerancia a la glucosa y disbiosis en el huésped, asociado con el desarrollo de diabetes en modelos murinos²⁶.
- Proporciones más grandes de Firmicutes que Bacteroidetes han sido relacionadas positivamente con el exceso de masa corporal y la obesidad, filos relacionados con hábitos alimenticios poco saludables.
- La disbiosis provocada por el consumo de edulcorantes fue capaz de inducir intolerancia a la glucosa mediada por la microbiota intestinal, lo que indica nuevas relaciones de la microbiota intestinal con enfermedades que antes no se habían relacionado.
- En condiciones de disbiosis, sin importar el origen de dicho estado, se ha relacionado positivamente con el desarrollo de enfermedades como la obesidad, diabetes tipo I, enfermedad inflamatoria intestinal (EII), asma, alergia, cáncer colorrectal, enfermedad de Crohn (EC), estrés, autismo, esclerosis múltiple, aterosclerosis y artritis reumatoide.
- Los recientes hallazgos encontrados en esta investigación han demostrado y documentado las alteraciones sobre el metabolismo, el tracto intestinal y su correcto funcionamiento, así como también, en otros órganos diferentes a los del tracto gastrointestinal, afectado así la homeostasis del huésped y no solamente su metabolismo.
- Estudios en modelos humanos han demostrado la colonización de la microbiota intestinal antes del nacimiento, lo cual cambia la forma en que interactuamos con diversos microorganismos que nos rodean incluso antes del nacimiento. Estas interacciones hacen la diferencia entre un correcto desarrollo en la

²⁶ Modelos en donde el organismo de prueba son ratas y ratones

infancia temprana y el desarrollo anormal del sistema inmunológico y el tracto gastrointestinal.

- Se espera que en futuras investigaciones sobre enfermedades autoinmunes y relacionadas se preste una especial atención en la dieta y en la microbiota del huésped.

Conclusión personal final

Debido a que la microbiota intestinal es uno de los sistemas bióticos más diversos y complejos que habitan diversas partes del cuerpo en los mamíferos, por ende, el estudio de dicho sistema resulta difícil y depende de muchas variables que incluso hoy en día son desconocidas. Si bien muchos de los estudios presentados trabajaron a dosis de IDA en humanos, algunos de ellos usaron dosis de hasta 120 veces el valor de la IDA, por lo que los resultados difícilmente podrían ser extrapolados en la realidad.

Muchos de los estudios revisados en el presente trabajo usaron condiciones controladas y estandarizadas, las cuales son difíciles de replicar en la vida cotidiana en modelos humanos; incluso algunos estudios en modelos humanos explicaron los resultados de los edulcorantes calóricos e hipocalóricos sin considerar otras variables como otros aditivos químicos alimentarios, agentes xenobióticos, estilos de vida, activación física y aspectos culturales y socioeconómicos. A pesar de que al día de hoy existen alimentos con probióticos, alimentos funcionales y un sinnúmero de alimentos que prometen mejorar la salud de quien lo consume, no hay que olvidar que la dieta representa uno de los pilares en el buen funcionamiento del cuerpo, por lo que la educación en temas nutrimentales debería ser uno de los pilares de la educación básica de todo ser humano.

Tampoco hay que dejar de lado que el consumo de edulcorantes, al igual que cualquier otro aditivo alimentario, nutriente y/o alimento en general, debe ser moderado ya que hay que recordar que en la dosis se encuentra el veneno.

5.2. Recomendaciones

A la luz de esta extensa revisión bibliográfica se hacen las siguientes recomendaciones:

- Moderar o suprimir el consumo de edulcorantes artificiales, naturales y mezclas de ellos,
- No hacer uso indiscriminado de estos aditivos alimentarios,
- De no ser necesario, evitar el consumo de productos que usen este tipo de aditivos alimentarios, tales como “bebidas de dieta” y productos “cero azúcar”,
- Llevar una dieta correcta y saludable para mantener en equilibrio la microbiota intestinal del huésped (eubiosis),
- Moderar el consumo de alimentos característicos de la dieta occidental y adoptar hábitos alimenticios propios de una dieta mediterránea,
- Evitar el consumo de productos que contengan edulcorantes artificiales, naturales o mezclas de ellos durante el embarazo y la lactancia,
- Para niños sanos, optar por alimentos y bebidas no alcohólicas endulzados con sacarosa en vez de alimentos endulzados con edulcorantes artificiales y solamente en casos necesarios,
- Consumir frecuentemente alimentos biotransformados ricos en probióticos vivos, tales como el yogurt, el kéfir, chucrut, etc.,
- Gracias al desarrollo de alimentos funcionales, hoy en día existen alimentos no biotransformados que incluyen probióticos en su formulación, incluso algunas farmacéuticas han lanzado probióticos en cápsulas para niños, adultos y personas mayores,
- Hay que recordar que la microbiota intestinal no es la misma a lo largo de la vida,
- Consumir fuentes naturales de prebióticos, tales como los cereales integrales, las frutas, los vegetales y los alimentos funcionales. Actualmente existen suplementos alimenticios y cápsulas para este mismo fin,

- Leer la lista de ingredientes de los alimentos que forman parte de nuestra dieta. Gracias a este sencillo hábito, el consumidor es capaz de identificar aquellos alimentos que contienen edulcorantes artificiales, naturales o mezclas de ellos. Si bien no todos los productos declaran las cantidades exactas que el fabricante usa de estos aditivos, el consumidor será capaz de tomar una decisión informada al momento de elegir sus alimentos procesados con base en la lista de ingredientes,
- Siempre que sea posible, cocinar alimentos con productos naturales y mínimamente procesados, evitar el consumo de alimentos con grandes cantidades de aditivos alimentarios como edulcorantes artificiales y naturales, conservadores químicos, agentes gelificantes (gomas) y colorantes, entre otros,
- Usar antibióticos solamente bajo prescripción médica, pues el uso de este tipo de compuestos puede provocar la resistencia a antibióticos y disbiosis en muy poco tiempo.

ANEXO

Anexo I. Resultados del consumo de edulcorantes en ratas y ratones

Edulcorante	Modelo	Dosis	Condiciones de experimentación	Resultados	Referencia
Sacarina	Ratones macho C57BL/6J de ocho semanas de edad	0.3 mg sacarina/ (equivalente al IDA humanos)	mL 6 meses de experimentación Alimento y agua <i>ad libitum</i> una semana antes de iniciar el experimento Dieta estándar para roedores Temperatura 22°C 40-70% de humedad Ciclos de luz y oscuridad de 12 horas	Después de tres meses de consumo, las proporciones de <i>Sporosarcina</i> , <i>Jeotgalicoccus</i> , <i>Akkermansia</i> , <i>Oscillospira</i> y <i>Corynebacterium</i> fueron mayores, mientras que en este mismo tiempo las proporciones de <i>Anaerostipes</i> y <i>Ruminococcus</i> decrecieron. Luego de seis meses, las proporciones de <i>Corynebacterium</i> , <i>Roseburia</i> y <i>Turicibacter</i> fueron mayores, mientras que <i>Ruminococcus</i> , <i>Adlercreutzia</i> y <i>Dorea</i> presentaron proporciones menores Algunas bacterias como <i>Corynebacterium</i> , <i>Turicibacter</i> , <i>Anaerostipes</i> , <i>Dorea</i> , <i>Roseburia</i> y <i>Ruminococcus</i> se relacionaron positivamente como responsables de inflamación en el huésped, además se identificaron genes y metabolitos bacterianos que podrían favorecer la inflamación en el huésped particularmente en el hígado	Bian et al. (2017)
Sucralosa	Ratones C57BL/6 de cinco semanas de edad	a. Dieta estándar b. Dieta estándar + sucralosa (2.5% m/v) c. Dieta rica en grasa Dieta rica en grasa + sucralosa (2.5% m/v)	8 semanas de experimentación Alimento y agua <i>ad libitum</i> Dieta rica en grasa (60% de kcal provenientes de lípidos) Ciclos de luz y oscuridad de 12 horas	No se encontraron diferencias significativas en términos de la diversidad alfa entre el grupo control y los demás grupos En cuanto a las distintas dietas, la dieta estándar (a) y dieta estándar + sucralosa (b), el grupo de ratones alimentados con sucralosa presentó un aumento significativo de Firmicutes y un decremento en las proporciones relativas de Bacteroidetes, sin cambios en Actinobacteria y Proteobacteria Por otro lado, de los grupos alimentados con la dieta rica en grasas, el grupo de ratones alimentados con la dieta rica en grasa + sucralosa (d) desarrolló cambios en la microbiota; incremento significativo de Firmicutes, respecto al grupo control, y proporciones relativas menores de Bacteroidetes, esto en los dos grupos Además de estos cambios, la ingesta del aditivo fue capaz de provocar un aumento significativo de <i>Bifidobacterium</i> pero sin cambios en <i>Clostridium</i> El consumo del edulcorante, con base en la ingesta de agua, fue de aproximadamente 3.3 mg/kg/día en el grupo de ratones con dieta estándar (b) y 1.5 mg/kg/día en el grupo de ratones con una dieta rica en grasa (d), lo cual significa una ingesta 300 a 600 veces más que el valor del IDA en humanos	Wang et al. (2018)

Edulcorante	Modelo	Dosis	Condiciones de experimentación	Resultados	Referencia
Sucralosa	Ratones macho C57BL/6J de ocho semanas de edad	0.1 mg sucralosa/ mL (equivalente al IDA en humanos)	6 meses de experimentación Alimento y agua <i>ad libitum</i> Dieta estándar para roedores Temperatura 22°C 40-70% de humedad Ciclos de luz y oscuridad de 12 horas	Alteraciones después de 3 meses de consumo del edulcorante con respecto al grupo control, entre los géneros que tuvieron alteraciones en su abundancia se encuentran <i>Turicibacteraceae Turicibacter</i> , <i>Lachnospiraceae Ruminococcus</i> , <i>Ruminococcaceae Ruminococcus</i> , <i>Verrucomicrobiaceae Akkermansia</i> , <i>Staphylococcaceae Staphylococcus</i> , <i>Streptococcaceae Streptococcus</i> , <i>Dehalobacteriaceae Dehalobacterium</i> , <i>Lachnospiraceae Anaerostipes</i> y <i>Roseburia</i> Se identificaron cuatro acil homoserina lactonas (moléculas relacionadas con el <i>quorum sensing</i>) en concentraciones menores a las normales, sinónimo de incorrecta señalización	Bian et al. (2017)
Acesulfame K, aspartame y sucralosa	Colonias de <i>E. coli</i> K-12	a. Acesulfame K (6 mg/mL) b. Aspartame (6 mg/mL) c. Sucralosa (6 mg/mL)	5 h / 37°C / 135 rpm Medio Lauria Bernati (LB) pH 5.2	Durante las primeras dos horas y media de experimentación los cambios estuvieron ausentes en el crecimiento de <i>E. coli</i> Después de las primeras dos horas y media, los medios de cultivo que contenían aspartame y sucralosa inhibieron el crecimiento de <i>E. coli</i> en comparación con el medio control, sin embargo, este efecto fue menor al cabo de cinco horas de incubación en donde no se observaron diferencias significativas con el medio control, no así para aspartame el cual mantuvo el efecto durante las cinco horas de incubación. Acesulfame K favoreció el crecimiento de <i>E. coli</i> K-12 durante la incubación en comparación con el medio control Se identificaron alteraciones en el metabolismo de <i>E. coli</i> K-12 debido a la presencia de los edulcorantes, tales como alteraciones sobre el metabolismo de ácidos grasos, vía de pentosa fosfato, metabolismo de propanoato, metabolismo de fosfonato y fosfinato y biosíntesis de varios aminoácidos incluyendo lisina y aminoácidos aromáticos	Shahriar et al. (2020)
Sacarosa, sucralosa (Splenda®) y stevia (Svetia®)	Ratones CD1 de tres semanas de edad	Grupo A a. Sacarosa (41.66 mg/mL) b. Sucralosa (4.1 mg/mL) c. Stevia (4.1 mg/mL) Grupo B d. Sacarosa (41.66 mg/mL) e. Sacarosa + sucralosa	Grupo A: 6 semanas de experimentación Grupo B: 12 semanas de experimentación Temperatura de 19-21°C Ciclos de luz y oscuridad de 12 horas Dieta de croquetas para	En el grupo control A se identificaron bacterias como <i>Acinetobacter haemolyticus</i> , <i>Pseudomonas koreensis</i> y <i>Staphylococcus xylosum</i> , mientras que en el grupo control B fueron identificadas algunas bacterias como <i>B. muralis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. raris</i> , <i>Enterococcus hirae</i> , <i>Lysinibacillus mangiferihumi</i> y <i>Pseudomonas</i>	Martínez-Carrillo et al. (2019)

Edulcorante	Modelo	Dosis	Condiciones de experimentación	Resultados	Referencia
		f. Sacarosa + stevia	roedores estándar y agua <i>ad libitum</i>	<p><i>moraviensis</i></p> <p>En el grupo de sacarosa (a) se identificaron bacterias como <i>Lysinibacillus fusiformis</i>, <i>Pseudomonas azotoformans</i>, <i>P. cedrina subsp fulgida</i>, <i>S. epidermidis</i>, <i>S. saccharolyticus</i>, <i>S. xylosus</i>, <i>B. aerius</i>, <i>B. safensis</i>, <i>B. subtilis</i> y <i>B. toyonensis</i>; por otro lado, en el grupo de sacarosa (d) se identificaron bacterias como <i>Rummeliibacillus stabekisii</i>, <i>Micrococcus yunnanensis</i>, <i>Enterococcus hirae</i>, <i>E. lactis</i>, <i>B. licheniformis</i>, <i>B. megaterium</i>, <i>B. pumilus</i> y <i>B. toyonensis</i></p> <p>El grupo de sucralosa (b) se identificaron bacterias como <i>Arthrobacter albus</i>, <i>Kocuria marina</i>, <i>Micrococcus yunnanensis</i>, <i>Pseudomonas knackmussii</i>, <i>B. asahii</i>, <i>B. atrophaeus</i>, <i>B. eiseniae</i> y <i>B. pumilus</i>, mientras que en el grupo de sacarosa + sucralosa (e) fueron identificadas bacterias del género <i>Bacillus</i> como <i>B. cereus</i>, <i>B. pumilus</i> y <i>B. safensis</i></p> <p>En el grupo de Stevia (c) se identificaron bacterias como <i>Streptococcus saliviroxodontae</i>, <i>B. aerius</i>, <i>B. circulans</i>, <i>B. licheniformis</i> y <i>B. safensis</i>, mientras que en el grupo de sacarosa + stevia (f) se identificaron un grupo pequeño de bacterias como <i>Bacillus safensis</i>, <i>Oceanobacillus sojiae</i> y <i>Staphylococcus lugdunensis</i></p>	
Sacarina, sucralosa, aspartame	Ratones C57BL/6 de 10 semanas de edad	<p>a. Formulaciones comerciales de sacarina, sucralosa y aspartame (95% glucosa, 5% del edulcorante), glucosa y sacarosa en el agua que los ratones bebieron</p> <p>b. Dieta rica en grasas y sacarina pura, dieta rica en grasas y sacarina comercial (95% glucosa, 5% del edulcorante), dieta rica en grasas y glucosa</p> <p>c. 0.1 mg de sacarina pura/mL disuelta en agua (dosis equivalentes al IDA en humanos)</p> <p>f. 0.5 mg/mL de sacarina</p>	<p>a. Duración de 11 semanas, consumo de agua <i>ad libitum</i>.</p> <p>b. Dieta rica en grasa, 60% de las kcal provenientes de grasa.</p> <p>c. Duración de 5 semanas, dieta rica en grasa, 60% de las kcal provenientes de grasa.</p> <p>e. 0.2 g ciprofloxacino/L, 1 g metronidazol/L</p> <p>f. Condiciones anaerobias</p>	<p>En la semana 11, los grupos de ratones que consumieron sacarina, sucralosa y aspartame desarrollaron intolerancia a la glucosa, la sacarina presentó el efecto más notable de todos los edulcorantes</p> <p>Ambos grupos desarrollaron intolerancia a la glucosa, excepto el grupo control</p> <p>Este grupo cohorte desarrolló intolerancia a la glucosa en apenas 5 semanas después de haber iniciado con la dieta rica en grasas</p> <p>El trasplante de microbiota proveniente de ratones que consumieron sacarina a ratones sanos desarrolló intolerancia a la glucosa en éstos</p> <p>Después de cuatro semanas, los ratones con intolerancia a la glucosa tratados con antibióticos presentaron curvas de tolerancia a la glucosa similares a las de ratones sanos. El desarrollo de intolerancia a la glucosa se asoció con cambios en la microbiota intestinal, los grupos que consumieron sacarina</p>	Suez et al. (2014)

Edulcorante	Modelo	Dosis	Condiciones de experimentación	Resultados	Referencia
Acesulfame K, mezcla de aspartame y acesulfame K, sacarina, sucralosa, fructosa y sacarosa	Ratas hembras y machos recién destetados	Dos grupos: Ratas hembras y machos a. Acesulfame K (0.05%) b. Mezcla de aspartame y acesulfame K (1.55%) c. Sacarina (0.033%) d. Sucralosa (0.019%) e. Glucosa (14%) f. Sacarosa (10%) g. Fructosa (7%)	483 días de experimentación (16.1 meses aproximadamente, 1.33 años aproximadamente) Agua <i>ad libitum</i> Temperatura 22°C 65-70% de humedad Ciclos de luz y oscuridad de 12 horas	<p>presentaron disbiosis en más de 40 OTUs; incremento en la abundancia relativa de géneros como <i>Bacteroides</i> y orden de los Clostridiales</p> <p>En modelos <i>in vitro</i> se reportó el aumento del filo de Bacteroidetes y reducción de Firmicutes, el trasplante de estos cultivos a ratones desarrolló intolerancia a la glucosa</p> <p>Al final de la infancia, para el grupo de ratas macho se observó incremento de masa en el grupo de fructosa, mientras que el grupo con menor incremento de masa fue el de sucralosa; por otro lado, en las ratas hembras el grupo de acesulfame K fue el que presentó mayor incremento de masa corporal, mientras que el grupo de glucosa fue el que presentó menor incremento en la masa corporal. No se encontraron diferencias significativas al final de la infancia entre ambos grupos, machos y hembras</p> <p>Al comienzo de la vida adulta joven, el grupo de ratas macho con mayor incremento de masa corporal fue el de sacarina pero sin diferencias significativas con respecto del grupo control en ambos grupos de ratas, machos y hembras</p> <p>Una vez alcanzada la vida adulta, el grupo de ratas macho alimentados con fructosa presentó la mayor masa corporal, mientras que el grupo alimentado con sucralosa presentó la menor masa corporal. El grupo de ratas hembra alimentadas con glucosa presentó la mayor masa corporal, mientras que el grupo de sacarosa presentó la menor masa corporal</p> <p>En el comienzo de la vejez, el grupo de ratas macho presentó mayor masa corporal con respecto del grupo de ratas hembra</p>	Mendoza-Pérez et al (2021)

Referencias

- Abdellatif, A. M., Jensen Smith, H., Harms, R. Z. y Sarvetnick, N. E. 2019. Human islet response to selected type 1 diabetes-associated bacteria: A transcriptome-based study. *Frontiers in Immunology*. 10, 2623.
- Abreu-y-Abreu, A. A., Milke-García, M. P., Argüello-Arévalo, G. A., Calderón-de-la Barca, A. M., Carmona-Sánchez, R. I., Consuelo-Sánchez, A., Coss-Adame, E., Gracia-Cedillo. M. F., Hernández-Rosiles, V., Icaza-Chávez, M. E., Martínez-Medina, J. N., Morán-Ramos, S., Ochoa-Ortiz, E., Reyes-Apodaca, M., Rivera-Flores, R. L., Zamarripa-Dorsey, F., Zárate-Mondragón, F. y Vázquez-Frías, R. 2021. Dietary fiber and the microbiota: A narrative review by a group of experts from the Asociación Mexicana de Gastroenterología. *Revista de Gastroenterología de México (English Edition)*. 86(3), 287-304.
- Alarcón, R. C. y Rojo, I. C. 2020. Microbiota intestinal y envejecimiento. *Geroinfo*. 15(1), 1-16.
- Alexander, K. L., Zhao, Q., Reif, M., Rosenberg, A. F., Mannon, P. J., Duck, L. W. y Elson, C. O. 2021. Human microbiota flagellins drive adaptive immune responses in Crohn's Disease. *Gastroenterology*. Article in press, doi: 10.1053/J.Gastro.2021.03.064
- Álvarez, J., Real, J. M. F., Guarner, F., Gueimonde, M., Rodríguez, J. M., De Pipaon, M. S. y Sanz, Y. 2021. Microbiota intestinal y salud. *Gastroenterología y Hepatología*. Article in press, doi: 10.1016/j.gastrohep.2021.01.009
- Anderson, G. H., Akhavan, T. y Mendelson, R. 2007. Food ingredients implicated in obesity: Sugars and sweeteners En: *Novel food ingredients for weight control*. Henry C. J. K. Ed. Woodhead Publishing. Pp. 104–127, Sawston, Reino Unido.
- Baduí-Dergal, S. 2006. *Química de los Alimentos*. Cuarta edición. Pearson Educación. Ciudad de México, México.
- Ballester-Ferré, M. P., Boscá-Watts, M. M. y Mínguez-Pérez, M. 2018. Enfermedad de Crohn. *Medicina Clínica*. 151(1), 26–33.

- Banik, D. D. y Medler, K. F. 2021. Bitter, sweet, and umami signaling in taste cells: It's not as simple as we thought. *Current Opinion in Physiology*. 20, 159-184.
- Behrens, M. y Munger, D. 2021. Receptors. Taste receptors. *Encyclopedia of Biological Chemistry III*. Third edition. 6, 314-322.
- Benítez-Páez, A., Gómez-del-Pugar, E. M., López-Almela, I., Moya-Pérez, Á., Codoñer-Franch, P. y Sanz, Y. 2020. Depletion of *Blautia* species in the microbiota of obese children relates to intestinal inflammation and metabolic phenotype worsening. *Msystems*. 5(2), E00857-19.
- Bian, X., Tu, P., Chi, L., Gao, B., Ru, H. y Lu, K. 2017. Saccharin induced liver inflammation in mice by altering the gut microbiota and its metabolic functions. *Food and Chemical Toxicology*. 107, 530-539.
- Binda, C., Lopetuso, L. R., Rizzatti, G., Gibiino, G., Cennamo, V. y Gasbarrini, A. 2018. Actinobacteria: A relevant minority for the maintenance of gut homeostasis. *Digestive and Liver Disease*. 50(5), 421-428.
- Boussamet, L., Montassier, E., Soullillou, J. P. y Berthelot, L. 2021. Anti α 1-3gal antibodies and gal content in gut microbiota in immune disorders and multiple sclerosis. *Clinical Immunology*. Article in press, doi: 10.1016/J.Clim.2021.108693
- Brandtzaeg, P. 2002. Current understanding of gastrointestinal immunoregulation and its relation to food allergy. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 964(1), 13-45.
- Brasca, M., Moradi, S. y Silveti, T. 2022. *Clostridium* spp. *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Third edition, 431-438.
- Brown, A. W., Brown, M. M. B., Onken, K. L. y Beitz, D. C. 2011. Short-Term consumption of sucralose, a nonnutritive sweetener, is similar to water with regard to select markers of hunger signaling and short-term glucose homeostasis in women. *Nutrition Research*. 31(12), 882-888.
- Burke, M. V. y Small, D. M. 2015. Physiological mechanisms by which non-nutritive sweeteners may impact body 'weight' and metabolism. *Physiology & Behavior*. 152, 381-388.

- Burkovski, A. 2015. *Corynebacterium glutamicum*: From systems biology to biotechnological applications. Caister Academic Press. Poole, Reino Unido.
- Carmody, R. N., Gerber, G. K., Luevano, J. M., Gatti, D. M., Somes, L., Svenson, K. L. y Turnbaugh, P. J. 2015. Diet dominates host genotype in shaping the murine gut microbiota. *Cell Host & Microbe*. 17(1), 72–84.
- Carocho, M., Morales P. y Ferreira, I.C. 2017. Sweeteners as food additives in the XXI Century: A review of what is known, and what is to come. *Food and Chemical Toxicology*. 107, 302-317.
- Carretero, A., Ruberte, J., Navarro, M. y Otaegui, P. 2017. Introduction. En: *Morphological mouse phenotyping: Anatomy histology and imaging*. J. Ruberte, A. Carretero y M. Navarro Eds. Panamericana. Pp. 1-6, Ciudad de México, México.
- Castillo-Álvarez, F., Perez-Matute, P., Oteo, J. A. y Marzo-Sola, M. E. 2021. The influence of interferon B-1b on gut microbiota composition in patients with multiple sclerosis. *Neurología (English Edition)*. Article in press, doi: 10.1016/J.Nrl.2018.04.006
- Castro-Muñoz, R., Correa-Delgado, M., Córdova-Almeida, R., Lara-Nava, D., Chávez-Muñoz, M., Velásquez-Chávez, V. F., Hernández-Torres, C. E., Gontarek-Castro, E. y Ahmad, M. Z. 2022. Natural sweeteners: Sources, extraction and current uses in foods and food industries. *Food Chemistry*. 130991.
- Chen, T., Long, W., Zhang, C., Liu, S., Zhao, L. y Hamaker, B. R. 2017. Fiber-Utilizing capacity varies in Prevotella- versus Bacteroides-dominated gut microbiota. *Scientific Reports*. 7(1), 1-7.
- Cheng, W. Y., Lam, K. L., Li, X., Kong, A. P. S. y Cheung, P. C. K. 2021. Circadian disruption-induced metabolic syndrome in mice is ameliorated by oat B-glucan mediated by gut microbiota. *Carbohydrate Polymers*. 267, 118216.
- Chong, P. P., Chin, V. K., Looi, C. Y., Wong, W. F., Madhavan, P. y Yong, V. C. 2019. The microbiome and irritable bowel syndrome—A review on the pathophysiology, current research and future therapy. *Frontiers in Microbiology*. 10, 1136.

- Collyer, R., Clancy, A. y Borody, T. 2020. Faecal microbiota transplantation alleviates symptoms of depression in individuals with irritable bowel syndrome: A case series. *Medicine in Microecology*. 6, 100029.
- Constantini, L., Molinari, R., Farinon y Merendino, N. 2022. Fatty acids and gut microbiota. Reference Module in Food Science. Article in press, doi: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819265-8.00026-7>
- Conway, T. y Cohen, P. S. 2015. Commensal and pathogenic *Escherichia coli* metabolism in the gut. *Microbiology Spectrum*. 3(3), 1-24.
- Cortez-Pinto, H., Borralho, P., Machado, J., Lopes, M. T., Gato, I. V., Santos, A. M. y Guerreiro, A. S. 2016. Microbiota modulation with symbiotic decreases liver fibrosis in a high fat choline deficient diet mice model of non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *GE Portuguese Journal of Gastroenterology*. 23(3), 132-141.
- Daher, M. I., Matta, J. M. y Abdel Nour, A. M. 2019. Non-Nutritive sweeteners and Type 2 Diabetes: Should we ring the bell? *Diabetes Research and Clinical Practice*. 155, 107786.
- Daly, K., Darby, A. C. y Shirazi-Beechey, S. P. 2016. Low calorie sweeteners and gut microbiota. *Physiology & Behavior*. 164, 494-500.
- David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., Ling, A. L., Devlin, A. S., Varma, Y., Fischbach, M. A., Biddinger, S. B., Dutton, R. J. y Turnbaugh, P. J. 2013. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 505(7484), 559–563.
- De-Arce, E. P., Quera, R. y Quigley, E. M. 2021. The dilemma of persistent irritable bowel syndrome symptoms in patients with quiescent inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics*. Article in press, doi: [10.1016/J.Gtc.2021.03.008](https://doi.org/10.1016/J.Gtc.2021.03.008)
- De-Filippo, C., Cavalieri, D., Di-Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J. B., Massart, S., Colline, S., Pieraccini, G. y Lionetti, P. 2010. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and Rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107(33), 14691-14696.

- De-Mateos F., F., Ballard, C. R., Foletto, K. C., Batista, B. A. M., Neves, A. M., Ribeiro, M. F. M. y Bertoluci, M. C. 2013. Saccharin and aspartame, compared with sucrose, induce greater weight gain in adult Wistar rats, at similar total caloric intake levels. *Appetite*. 60, 203-207.
- Del-Campo-Moreno, R., Alarcón-Cavero, T., D'auria, G., Delgado-Palacio, S. y Ferrer-Martínez, M. 2018. Microbiota en la salud humana: técnicas de caracterización y transferencia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 36(4), 241–245.
- Del Razo, O. F. M. 2020. Definición de una dieta saludable. [En línea] (Actualizado al 23 de noviembre de 2020). Disponible en: <https://alimentacionysalud.unam.mx/definicion-de-una-dieta-saludable/> [Último acceso el 10 de octubre de 2021].
- Devaraj, S., Hemarajata, P. y Versalovic, J. 2013. La microbiota intestinal humana y el metabolismo corporal: Implicaciones con la obesidad y la diabetes. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 47(2), 421-434.
- Di Rienzi, S. C. y Britton, R. A. 2020. Adaptation of the gut microbiota to modern dietary sugars and sweeteners. *Advances in Nutrition*. 11(3), 616-629.
- Ding, X., Xu, Y., Zhang, X., Zhang, L., Duan, G., Song, C., Li, Z., Yang, Y., Wang, Y., Wang, X. y Zhu, C. 2020. Gut microbiota changes in patients with autism spectrum disorders. *Journal of Psychiatric Research*. 129, 149-159.
- DOF. 2009. DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signodecimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002, Sistema general de unidades de medida. CUARTO.- Se modifica el encabezado de la tabla 13 para quedar como sigue: Tabla 21 - Reglas para la escritura de los números y su signo decimal. Signo decimal. El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (·). Si la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. Diario Oficial de la Federación: Jueves 24 de septiembre de 2009. Poder Ejecutivo Federal. México D.F., México.

- Doifode, T., Giridharan, V. V., Generoso, J. S., Bhatti, G., Collodel, A., Schulz, P. E., Forlenza, O. V. y Barichello, T. 2020. The impact of the microbiota-gut-brain axis on Alzheimer's disease pathophysiology. *Pharmacological Research*. 164, 105314.
- Du, Y., Gao, X-R., Peng, L. y Ge, J.-F. 2020. Crosstalk between the microbiota-gut-brain axis and depression. *Heliyon*. 6(6), E04097.
- Duarte, S. M. B., Stefano, J. T. y Oliveira, C. P. 2019. Microbiota and nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis (NAFLD/NASH). *Annals of Hepatology*. 18(3), 416-421.
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M. d. C. 2020. Alimentos chatarra y las bebidas endulzadas en los tiempos del Covid-19. *RD-ICUAP*. 6(18), 1-16.
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M. d. C. 2017. Aditivos: Negocios a la moda. Parte 4. *RD-ICUAP*. 3(2), 1-31.
- Eaton, K. A., Honkala, A., Auchtung, T. A. y Britton, R. A. 2011. Probiotic *Lactobacillus reuteri* ameliorates disease due to enterohemorrhagic *Escherichia coli* in germfree mice. *Infection and Immunity*. 79(1), 185-191.
- Evrensel, A. y Tarhan, K. N. 2021. Emerging role of gut-microbiota-brain axis in depression and therapeutic implication. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 106, 110138.
- Fernández-Julia, P., Munoz-Munoz, J. y Van Sinderen, D. 2021. A comprehensive review on the impact of β -glucan metabolism by *Bacteroides* and *Bifidobacterium* species as members of the gut microbiota. *International Journal of Biological Macromolecules*. 181, 877-889.
- Fettig, N. M. y Osborne, L. C. 2021. Direct and indirect effects of microbiota-derived metabolites on neuroinflammation in multiple sclerosis. *Microbes and Infection*. 23(6-7), 104814.
- Foletto, K. C., Batista, B. A. M., Neves, A. M., De-Matos-Feijó, F., Ballard, C. R., Ribeiro, M. F. M. y Bertoluci, M. C. 2016. Sweet taste of saccharin induces weight gain without increasing caloric intake, not related to insulin-resistance in Wistar rats. *Appetite*. 96, 604-610.

- Fong, P., Butel-Simoes, G., Francis, M. J., Korman, T. M. y Graham, M. 2021. *Corynebacterium macginleyi* in the era of MALDI-TOF MS: Epidemiology, susceptibility patterns and prevalence of co-infection. Pathology. Article in press, doi: <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2021.07.007>
- García-Gutiérrez, E. y Sayavedra, L. 2021. Diet, microbiota and the gut-brain axis. Reference Module in Food Science. Article in press, doi: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819265-8.00089-9>
- García-Montero, C., Fraile-Martínez, O., Gómez-Lahoz, A. M., Pekarek, L., Castellanos, A. J., Noguerales-Fraguas, F., Coca, S., Guajirro, L. G., García-Honduvilla, N., Asúnsolo, A., Sánchez-Trujillo, L., Lahera, G., Bujan, J., Monserrat, J., Álvarez-Mon, M., Álvarez-Mon, M. A. y Ortega, M. A. 2021. Nutritional components in western diet versus Mediterranean diet at the gut microbiota-immune system interplay. Implications for health and disease. Nutrients. 13(2), 699.
- Geraedts, M. C. P., Troost, F. J. y Saris, W. H. M. 2011. Different tastants and low-caloric sweeteners induce differential effects on the release of satiety hormones. Food Chemistry. 129(3), 731–738.
- Ghimire, S., Kumar, R., Nelson, E., Christopher-Hennings, J. y Scaria, J. 2020. Genome sequence and description of *Blautia brookingsii* SG772 Sp. Nov., a novel bacterial species isolated from human faeces. New Microbes and New Infections. 34, 100648.
- Glibetic, N., Aan, F. J., Montoya-Urbe, V. y Matter, M. L. 2022. The role of microbiota in gut inflammation and sepsis. Reference Module in Food Science. Article in press, doi: [10.1016/b978-0-12-819265-8.00023-1](https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819265-8.00023-1)
- Gómez-Eguílaz, M., Ramón-Trapero, J. L., Pérez-Martínez, L. y Blanco, J. R. 2019. El eje microbiota-intestino-cerebro y sus grandes proyecciones. Revista de Neurología. 68(3), 111-117.
- Gotteland, M. 2013. El papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de la obesidad y de la diabetes de tipo-2. Annals of Internal Medicine. 120, 817-820.

- Gouba, N., Hien, Y. E., Guissou, M. L., Fonkou, M. D. M., Traoré, Y. y Tarnagda, Z. 2019. Digestive tract mycobiota and microbiota and the effects on the immune system. *Human Microbiome Journal*. 12, 100056.
- Greenwood, D. C., Threapleton, D. E., Evans, C. E. L., Cleghorn, C. L., Nykjaer, C., Woodhead, C. y Burley, V. J. 2014. Association between sugar-sweetened and artificially sweetened soft drinks and Type 2 Diabetes: Systematic review and dose–response meta-analysis of prospective studies. *British Journal of Nutrition*. 112(5), 725-734.
- Guarner, F. 2007. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutrición Hospitalaria*. 22, 14-19.
- Gui, D. D., Luo, W., Yan, B. J., Ren, Z., Tang, Z. H., Liu, L. S., Zhang, J. F. y Jiang, Z. S. 2021. Effects of gut microbiota on atherosclerosis through hydrogen sulfide. *European Journal of Pharmacology*. 896, 173916.
- Guo, X., Li, J., Tang, R., Zhang, G., Zeng, H., Wood, R. J. y Liu, Z. 2017. High fat diet alters gut microbiota and the expression of Paneth cell-antimicrobial peptides preceding changes of circulating inflammatory cytokines. *Mediators of Inflammation*. 2017, 1–9.
- Guzmán A. F. Gaceta UNAM. 2020. Edulcorantes, factor de riesgo de diabetes. [En línea] (Actualizado al 13 de noviembre de 2020). Disponible en: <https://www.gaceta.unam.mx/edulcorantes-factor-de-riesgo-de-diabetes/> [Último acceso el 14 de mayo de 2021].
- Harmsen, H. J. M. y De-Goffau, M. C. 2016. The human gut microbiota. En: *Microbiota of the human body. Implications in health and disease*. Schwiertz, A. ed. Springer Int. Publishing Ag. Pp. 95-108. New York, Estados Unidos.
- Hooper, L. V., Littman, D. R. y Macpherson, A. J. 2012. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science*. 336(6086), 1268-1273.
- Hou, H. y Zhao, H. 2021. Epigenetic factors in atherosclerosis: DNA methylation, folic acid metabolism, and intestinal microbiota. *Clinica Chimica Acta*. 512, 7-11.

- Hou, J. J., Wang, X., Li, Y., Su, S., Wang, Y. M. y Wang, B. M. 2021. The relationship between gut microbiota and proteolytic activity in irritable bowel syndrome. *Microbial Pathogenesis*. 157, 104995.
- Hu, B., Ye, C., Leung, E. L. H., Zhu, L., Hu, H., Zhang, Z., Zheng, J. y Liu, H. 2020. *Bletilla striata* oligosaccharides improve metabolic syndrome through modulation of gut microbiota and intestinal metabolites in high fat diet-fed mice. *Pharmacological Research*. 159, 104942.
- Hu, Y., Zhao, M., Lu, Z., Lv, F., Zhao, H. y Bie, X. 2021. *L. Johnsonii*, *L. Plantarum*, and *L. Rhamnosus* alleviated enterohaemorrhagic *Escherichia coli*-induced diarrhoea in mice by regulating gut microbiota. *Microbial Pathogenesis*. 154, 104856.
- Icaza-Chávez, M. E. 2013. Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Revista de Gastroenterología de México*. 78(4), 240–248.
- Iebba, V., Totino, V., Gagliardi, A., Santangelo, F., Cacciotti, F., Trancassini, M., Mancini C., Cicerone, C., Corazziari, E., Pantanella, F. y Schippa, S. 2016. Eubiosis and dysbiosis: The two sides of the microbiota. *New Microbiologica*. 39(1), 1-12.
- Iljazovic, A., Amend, L., Galvez, E. J., De Oliveira, R. y Strowig, T. 2021. Modulation of inflammatory responses by gastrointestinal *Prevotella* spp.– From associations to functional studies. *International Journal of Medical Microbiology*. 311(2), 151472.
- INSP. 2018. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2018. Instituto Nacional de Salud Pública. [En línea] (Actualizado al 9 de noviembre de 2020). Disponible en https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentacion_resultados.pdf [Último acceso el 10 de octubre de 2021].
- Jan, G., Lan, A. y Leverrier, P. 2007. Dairy propionibacteria as probiotics. En: *Functional Dairy Products*. Saarela, M. ed. Woodhead Publishing. Pp. 165–194. Cambridge, Estados Unidos.
- Jiang, J., Liu, S., Jamal, T., Ding, T., Qi, L., Lv, Z., Yu, D. y Shi, F. 2020. Effects of dietary sweeteners supplementation on growth performance, serum

biochemicals, and jejunal physiological functions of broiler chickens. *Poultry Science*. 99(8), 3948-3958.

- Jiménez, E., Marín, M. L., Martín, R., Odriozola, J. M., Olivares, M., Xaus, J., Fernández, L. y Rodríguez, J. M. 2008. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Research in Microbiology*. 159(3), 187-193.
- Jin, H., Fishman, Z. H., Ye, M., Wang, L. y Zuker, C. S. 2021. Top-Down control of sweet and bitter taste in the mammalian brain. *Cell*. 184(1), 257-271.
- Kang, Y., Kang, X., Yang, H., Liu, H., Yang, X., Liu, Q., Tian, H., Xue, Y., Ren, P., Kuang, X., Cai, Y., Tong, Li, L. y Fan W. 2021. *Lactobacillus acidophilus* ameliorates obesity in mice through modulation of gut microbiota dysbiosis and intestinal permeability. *Pharmacological Research*. Article in press, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.106020>
- Kiatpapan, P. y Murooka, Y. 2002. Genetic manipulation system in Propionibacteria. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 93(1), 1–8.
- Kitamura, K., Sasaki, M., Matsumoto, M., Shionoya, H. y Iida, K. 2021. Protective effect of *Bacteroides fragilis* LPS on *Escherichia coli* LPS-induced inflammatory changes in human monocytic cells and in a rheumatoid arthritis mouse model. *Immunology Letters*. 233, 48-56.
- Kong, C., Gao, R., Yan, X., Huang, L. y Qin, H. 2019. Probiotics improve gut microbiota dysbiosis in obese mice fed a high-fat or high-sucrose diet. *Nutrition*. 60, 175-184.
- Korpela, K. 2018. Diet, microbiota, and metabolic health: Trade-off between saccharolytic and proteolytic fermentation. *Annual Review of Food Science and Technology*. 9(1), 65–84.
- Korpela, K., Helve, O., Kolho, K. L., Saisto, T., Skogberg, K., Dikareva, E., Stefanovic, V., Solonen, A., Andersson, S. y De Vos, W. M. 2020. Maternal fecal microbiota transplantation in cesarean-born infants rapidly restores normal gut microbial development: A proof-of-concept study. *Cell*. 183(2), 324-334.

- Krga, I. y Glibetic, M. 2021. Gut microbiota in health and diseases. Reference Module in Food Sciences. Article in press, doi: 10.1016/b978-0-12-819265-8.00045-0
- Krupa-Kozak, U. y Drabińska, N. 2022. Gut microbiota and a gluten-free diet. Reference Module in Food Science. Article in press, doi: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819265-8.00036-x>
- Lasheras, I., Gracia-García, P. y Santabárbara, J. 2021. Modulation of gut microbiota in autism spectrum disorders: A systematic review. *The European Journal of Psychiatry*. 35(2), 107-121.
- Laviada-Molina H., Molina-Segui, F. y Janssen-Aguilar, R. 2019. Artificial sweeteners: Implications for 'weight' loss in obesity. En: *Nutrition in the prevention and treatment of abdominal obesity*. Ross. W. R. ed. Academic Press. Pp. 317- 328. Arizona, Estados Unidos.
- Lee, A. A. y Owyang, C. 2019. Sugars, sweet taste receptors, and brain responses. *Molecular Nutrition: Carbohydrates*. 9(7), 265-283.
- Lee, K.-S., Jeong, Y.-J. y Lee, M.-S. 2021. *Escherichia coli* Shiga toxins and gut microbiota interactions. *Toxins*. 13(6), 416.
- Lertrit, A., Srimachai, S., Saetung, S., Chanprasertyothin, S., Chailurkit, L. O., Areevut, C., Katekao P., Ongphiphadhanakul. B. y Sriphrapradang, C. 2018. Effects of sucralose on insulin and glucagon-like peptide-1 secretion in healthy subjects: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition*. 55, 125-130.
- Levy, M., Kolodziejczyk, A. A., Thaïss, C. A. y Elinav, E. 2017. Dysbiosis and the immune system. *Nature Reviews Immunology*. 17(4), 219–232.
- Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S. y Gordon, J. I. 2006. Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 444(7122), 1022–1023.
- Leylabadlo, H. E., Ghotaslou, R., Feizabadi, M. M., Farajnia, S., Moaddab, S. Y., Ganbarov, K., Khodadadi, E., Tanomand, A., Sheykhsaran, E., Yousefi, B. y Kafil, H. S. 2020. The critical role of *Faecalibacterium prausnitzii* in human health: An overview. *Microbial Pathogenesis*. 149, 104344.

- Liu, H., Zhu, H., Xia, H., Yang, X., Yang, L., Wang, S., Wen, J. y Sun, G. 2021c. Different effects of high-fat diets rich in different oils on lipids metabolism, oxidative stress and gut microbiota. *Food Research International*. 141, 110078.
- Liu, X., Mao, B., Gu, J., Wu, J., Cui, S., Wang, G., Zhao, J., Zhang, H. y Chen, W. 2021b. *Blautia*—A new functional genus with potential probiotic properties? *Gut Microbes*. 13(1), 1-21.
- Liu, Y., Sanderson, D., Mian, F., Neufeld, K. A. M. y Forsythe, P. 2021a. Loss of vagal integrity disrupts immune components of the microbiota-gut-brain axis and inhibits the effect of *Lactobacillus rhamnosus* on behavior and the corticosterone stress response. *Neuropharmacology*. 195, 108682.
- López-Siles, M., Duncan, S. H., Garcia-Gil, L. J. y Martínez-Medina, M. 2017. *Faecalibacterium prausnitzii*: From microbiology to diagnostics and prognostics. *The ISME Journal*. 11(4), 841-852.
- Ma, J., Bellon, M., Wishart, J. M., Young, R., Blackshaw, L. A., Jones, K. L., Horowitz, M. y Rayner, C. K. 2009. Effect of the artificial sweetener, sucralose, on gastric emptying and incretin hormone release in healthy subjects. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 296(4), g735-g739.
- Ma, T., Jin, H., Kwok, L. Y., Sun, Z., Liong, M. T. y Zhang, H. 2021. Probiotic consumption relieved human stress and anxiety symptoms possibly via modulating the neuroactive potential of the gut microbiota. *Neurobiology of Stress*. 14, 100294.
- Macpherson, A. J., Hunziker, L., McCoy, K. y Lamarre, A. 2001. IgA responses in the intestinal mucosa against pathogenic and non-pathogenic microorganisms. *Microbes and Infection*. 3(12), 1021–1035.
- Marcondes-Ávila, P. R., Fiorot, M., Michels, M., Dominguni, D., Abatti, M., Vieira, A., De-Mourac, A. B., Behenckc, J. P., Borbac, L. A., Botelhoc, M. E. M., Réusc, G, Z., Dal-Pizzola F. y Ritter, C. 2020. Effects of microbiota transplantation and the role of the vagus nerve in gut–brain axis in animals

subjected to Chronic mild stress. *Journal of Affective Disorders*. 277, 410-416.

- Marteau, P., Camus-Duboc, M. y Seksik, P. 2019. Enfermedad de Crohn. EMC-Tratado de Medicina. 23(3), 1-9.
- Martínez-Carrillo, B. E., Rosales-Gómez, C. A., Ramírez-Durán, N., Reséndiz-Albor, A. A., Escoto-Herrera, J. A., Mondragón-Velásquez, T., Valdés-Ramos, R. y Castillo-Cardiel, A. 2019. Effect of Chronic consumption of sweeteners on microbiota and immunity in the small intestine of young mice. *International Journal of Food Science*. 2019, 1-16.
- Maslowski, K. M. y Mackay, C. R. 2011. Diet, gut microbiota, and immune responses. *Nature Immunology*. 12(1), 5-9.
- Mathur, K., Agrawal, R. K., Nagpure, S. y Deshpande, D. 2020. Effect of artificial sweeteners on insulin resistance among type-2 diabetes mellitus patients. *Journal of Family Medicine and Primary Care*. 9(1), 69.
- McDonald, B. y McCoy, K. D. 2019. Maternal microbiota in pregnancy and early life. *Science*. 365(6457), 984-985.
- McDowell, A. y Nagy, I. 2015. Propionibacteria and disease. En: *Molecular Medical Microbiology*. Tang, Y-W., Sussman, M., Liu, D., Poxton, I. y Schwartzman, J. eds. Academic Press. Pp. 837-858. Cambridge, Estados Unidos.
- Mehrzad, R. 2020. Definition and introduction to epidemiology of obesity. En: Mehrzad, R. ed. *Obesity. Global impact and epidemiology*. Elsevier. Pp. 1–6. Ámsterdam, Países Bajos.
- Mejía, E. y Pearlman, M. 2019. Natural alternative sweeteners and diabetes management. *Current Diabetes Reports*. 19(12), 1-10.
- Mendoza-Pérez, S., García-Gómez, R. S., Ordaz-Nava, G., Gracia-Mora, M. I., Macías-Rosales, L., Morales-Rico, H., Salas-Garrido, G., Pérez-Armendáriz, E. M., Bustamante-García, R. y Durán-Domínguez-de-Bazúa, M. d. C. 2021a. Consumption of sweeteners at different stages of life: effects on body mass, food and drink intake in male and female Wistar rats. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. Article in press, doi: 10.1080/09637486.2021.1888077.

- Mendoza-Pérez, S., García-Gómez, R. S., Ordaz-Nava, G., Gracia-Mora, M. I., Macías-Rosales, L., Morales-Rico, H., Salas-Garrido, G. y Durán-Domínguez-de-Bazúa, M. d C. 2021b. Efecto del sexo en la ganancia de masa corporal de modelos animales del destete a la juventud consumiendo sacarosa, glucosa y fructosa suministradas en el agua potable. En: Ciencia, Salud y Género. Pérez-Armendáriz, E. M., Durante-Montiel, I. y Figueroa-Pérez, M. I. eds. LIBRUNAM. Pp. 282-302. Ciudad de México, México.
- Miquel, S., Martín, R., Rossi, O., Bermúdez-Humarán, L. G., Chatel, J. M., Sokol, H., Thomas, M., Wells, J. M. y Langella, P. 2013. *Faecalibacterium prausnitzii* and human intestinal health. *Current Opinion in Microbiology*. 16(3), 255-261.
- Mitchell, C. M., Mazzoni, C., Hogstrom, L., Bryant, A., Bergerat, A., Cher, A., Pochan, S., Herman, P., Carrigan, M., Sharp, K., Huttenhower, C., Lander, E. S., Vlamakis, H, Xavier, R. J. y Yassour, M. 2020. Delivery mode affects stability of early infant gut microbiota. *Cell Reports Medicine*. 1(9), 100156.
- Mitsutomi, K., Masaki, T., Shimasaki, T., Gotoh, K., Chiba, S., Kakuma, T. y Shibata, H. 2014. Effects of a nonnutritive sweetener on body adiposity and energy metabolism in mice with diet-induced obesity. *Metabolism*. 63(1), 69–78.
- Moossavi, S., Sepehri, S., Robertson, B., Bode, L., Goruk, S., Field, C. J., Lix., M. L., De Souza, R. J., Becker, A. B., Mandhane, P. J., Turvey, S. E., Subbarao, P., Moraes, T. J., Lefebvre, D. L., Sears, M. R., Khafipour, E. y Azad, M. B. 2019. Composition and variation of the human milk microbiota are influenced by maternal and early-life factors. *Cell Host & Microbe*. 25(2), 324–335.
- Morales, P. J. M., Mingo, S. E. M. y Caro G. M. A. 2015. Libro virtual de formación en otorrinolaringología. SEORL PCF. Madrid, España.
- Moreno-Martínez, M., García-Ruiz, A. y Sánchez-González, D. 2011. Efecto de los edulcorantes no nutritivos (aspartame y sucralosa) en el ‘peso’ de las ratas. Estudio prospectivo, controlado, aleatorizado, doble ciego. *Revista Sanidad Militar México*. 65(4), 168-75.
- Mortera, S. L., Soggiu, A., Vernocchi, P., Del Chierico, F., Piras, C., Carsetti, R., Marzano, V., Britti, D., Urbani, A., Roncada, P. y Putignani, L. 2019.

Metaproteomic investigation to assess gut microbiota shaping in newborn mice: A combined taxonomic, functional and quantitative approach. *Journal of Proteomics*. 203, 103378.

- Mühlhauser, M. 2019. *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*. *Revista Chilena de Infectología*. 36(6), 763-764.
- Murdaca, G., Greco, M., Borro, M. y Gangemi, S. 2021. Hygiene hypothesis and autoimmune diseases: A narrative review of clinical evidence and mechanisms. *Autoimmunity Reviews*. 20 (7), 102845.
- Nash, M. J., Frank, D. N. y Friedman, J. E. 2017. Early microbes modify immune system development and metabolic homeostasis—The “Restaurant” hypothesis revisited. *Frontiers In Endocrinology*. 8, 349-356.
- Nasim, F., Dey, A. y Qureshi, I. A. 2021. Comparative genome analysis of *Corynebacterium* species: The underestimated pathogens with high virulence potential. *Infection, Genetics and Evolution*. 93, 104928.
- Navarro, M. 2012. Aspectos bromatológicos y toxicológicos de los edulcorantes. Ediciones Díaz de Santos. Madrid, España.
- Navarro, M., Ruberte, J., Carretero, A., Nacher, V. y Domínguez, E. 2017. Digestive tract. En: *Morphological mouse phenotyping: Anatomy histology and imaging*. Ruberte, J., Carretero, A. y Navarro, M. eds. Panamericana, Pp. 89-146. Ciudad de México, México.
- Neish, A. S. 2017. Probiotics of the acidophilus group: *Lactobacillus acidophilus*, *delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *johnsonii*. En: *The microbiota in gastrointestinal pathophysiology*. Floch, M. H., Ringel, Y. y Walker, W. A. Eds. Academic Press, Pp. 71-78. Cambridge, Estados Unidos.
- Nuttall, F. Q. 2015. Body Mass Index. Obesity, BMI, and health: A critical review. *Nutrition Today*. 50(3), 117–128.
- Oak, S. J. y Jha, R. 2018. The effects of probiotics in lactose intolerance: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 59(11), 1675-1683.
- Ochoa, C. 2013. La biota intestinal, el metabolismo energético, y la diabetes mellitus. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*. 23, 113-129.

- Olivares, M. y Sanz, Y. 2021. Gut microbiota in the etiopathogenesis of celiac disease. En: Biotechnological strategies for the treatment of gluten intolerance. Rossi, M. ed. Elsevier, Pp. 45-64. Ámsterdam, Países Bajos.
- OMS. 2017. 10 Datos sobre la obesidad. Organización Mundial de la Salud. [En línea] (Actualizado al 1 de marzo de 2021). Disponible en: <https://www.who.int/features/factfiles/obesity/es/> [Último acceso el 1 de marzo de 2021].
- OMS. 2018. *E. coli*. Organización Mundial de la Salud. [En Línea] (Actualizado al 7 de febrero de 2018). Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli> [Último acceso el 10 de octubre de 2021].
- OMS. 2021. Obesidad y 'sobrepeso'. Organización Mundial de la Salud. [En línea] (Actualizado al 9 de junio de 2021). Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> [Último acceso el 29 de junio de 2021].
- Ozogul, F., Yazgan, H. y Ozogul, Y. 2022. Lactic acid bacteria: *Lactobacillus acidophilus*. Encyclopedia of Dairy Sciences (Third edition), 187-197.
- Padrón, P. C. A. 2019. Human gut microbiota and diet. Food Sciences.1, 31-42.
- Palatnik, A., Moosreiner, A. y Olivier-Van S. 2020. Consumption of non-nutritive sweeteners during pregnancy. American Journal of Obstetrics & Gynecology. 223, 211-218.
- Palmer, C., Bik, E. M., Digiulio, D. B., Relman, D. A. y Brown, P. O. 2007. Development of the human infant intestinal microbiota. Plos Biology. 5(7), E177.
- Pepino, M. Y., Tiemann, C. D., Patterson, B. W., Wice, B. M. y Klein, S. 2013. Sucralose affects glycemic and hormonal responses to an oral glucose load. Diabetes Care. 36(9), 2530-2535.
- Peterson, D. A., Frank, D. N., Pace, N. R. y Gordon, J. I. 2008. Metagenomic approaches for defining the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. Cell Host & Microbe. 3(6), 417-427.
- Plaza-Diaz, J., Pastor-Villaescusa, B., Rueda-Robles, A., Abadia-Molina, F. y Ruiz-Ojeda, F. J. 2020. Plausible biological interactions of low-and non-calorie

sweeteners with the intestinal microbiota: An update of recent studies. *Nutrients*. 12(4), 1153.

- Proença, I. M., Allegretti, J. R., Bernardo, W. M., De Moura, D. T., Neto, A. M. P., Matsubayashi, C. O., Flor, M. M., Kotinda, A. P. T. S. y De Moura, E. G. 2020. Fecal microbiota transplantation improves metabolic syndrome parameters: Systematic review with meta-analysis based on randomized clinical trials. *Nutrition Research*. 83, 1-14.
- Pyle, S. 2021. Human gut microbiota and the influence of probiotics, prebiotics, and micronutrients. Reference Module in Food Science. Article in press, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819265-8.00076-0>
- Qian, X. H., Song, X. X., Liu, X. L. y Tang, H. D. 2021. Inflammatory pathways in Alzheimer's disease mediated by gut microbiota. *Ageing Research Reviews*. 68, 101317.
- Raben, A., Møller, B., Flint, A., Vasilaras, T., Christina Møller, A., Juul Holst, J. y Astrup, A. 2011. Increased postprandial glycaemia, insulinemia, and lipidemia after 10 weeks' sucrose-rich diet compared to an artificially sweetened diet: A randomised controlled trial. *Food & Nutrition Research*, 55(1), 5961.
- Ramírez, S. y Villanueva, A. 2013. Síndrome de intestino irritable. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*. 70(607), 511-514.
- Ramos, S. y Martín, M. Á. 2021. Impact of diet on gut microbiota. *Current Opinion in Food Science*. 37, 83-90.
- Rao, J., Qiao, Y., Xie, R., Lin, L., Jiang, J., Wang, C. y Li, G. 2021. Fecal microbiota transplantation ameliorates stress-induced depression-like behaviors associated with the inhibition of glial and NLRP3 inflammasome in rat brain. *Journal of Psychiatric Research*. 137, 147-157.
- Raoult, D. 2008. Obesity pandemics and the modification of digestive bacterial flora. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 27(8), 631–634.
- Rautava, S. 2021. Diet and microbiota in early life. Reference Module in Food Science. Article in press, doi: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819265-8.00085-1>

- Ren, X., Zhou, L., Terwilliger, R., Newton, S. y De Araujo, I. E. 2009. Sweet taste signaling functions as a hypothalamic glucose sensor. *Frontiers in Integrative Neuroscience*. 3, 1-15.
- Ribeiro, G. y Oliveira-Maia, A. J. 2021. Sweet taste and obesity. *European Journal of Internal Medicine*. Article in press, doi: 10.1016/j.ejim.2021.01.023
- Rinninella, E., Cintoni, M., Raoul, P., Ianiro, G., Laterza, L., Ponziani, F. R., Pulcinie, G., Gasbarrinic, A. y Mele, M. C. 2022. Diet-Induced alterations in gut microbiota composition and function. *Reference Module in Food Science*. Article in press, doi: 10.1016/b978-0-12-819265-8.00035-8
- Rizzatti, G., Lopetuso, L. R., Gibiino, G., Binda, C. y Gasbarrini, A. 2017. Proteobacteria: A common factor in human diseases. *BioMed Research International*. 2017, 1-7.
- Robles-Alonso, V. y Guarner, F. 2013. Progreso en el conocimiento de la microbiota intestinal humana. *Nutrición Hospitalaria*. 3, 553-557.
- Rodicio, M. R. y Mendoza, M. C. 2004. Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: Fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 22(4), 238-245.
- Rother, K. I., Conway, E. M. y Sylvetsky, A. C. 2018. How non-nutritive sweeteners influence hormones and health. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 29(7), 455–467.
- Ruiz, A. V., Puig P. y Rodríguez A. M. 2012. Microbiota intestinal, sistema inmune y obesidad. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 29, 364-397.
- Ruiz-Ojeda, F. J., Plaza-Díaz, J., Sáez-Lara, M. J. y Gil, A. 2019. Effects of sweeteners on the gut microbiota: A review of experimental studies and clinical trials. *Advances in Nutrition*. 10, s31-s48.
- Sakandar, H. A. y Zhang, H. 2021. Trends in probiotic (S)-fermented milks and their *in vivo* functionality: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 110, 55-65.

- Samarkos, M., Mastrogianni, E. y Kampouroupolou, O. 2018. The role of gut microbiota in *Clostridium difficile* infection. *European Journal of Internal Medicine*. 50, 28-32.
- Santoni, M., Miccini, F. y Battelli, N. 2020. Gut microbiota, immunity and pain. *Immunology Letters*. Article in press, doi: 10.1016/j.imlet.2020.11.010
- Schieppatti, A., Bacchi, S., Biagi, F., Panelli, S., Betti, E., Corazza, G. R., Capelli, E. y Ciccocioppo, R. 2021. Relationship between duodenal microbiota composition, clinical features at diagnosis, and persistent symptoms in adult coeliac disease. *Digestive and Liver Disease*. Article in press, doi: 10.1016/j.dld.2021.02.019
- Schroeder, B. O., Birchenough, G. M., Ståhlman, M., Arike, L., Johansson, M. E., Hansson, G. C. y Bäckhed, F. 2018. Bifidobacteria or fiber protects against diet-induced microbiota-mediated colonic mucus deterioration. *Cell Host & Microbe*. 23(1), 27-40.
- Segal A., Zlotnik Y., Moyal-Atias, K., Abuhasira R. e Ifergane G. 2021. Fecal microbiota transplant as a potential treatment for Parkinson's disease – A case series. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. Article in press, doi: 10.1016/j.clineuro.2021.106791
- Shahriar, S., Ahsan, T., Khan, A., Akhteruzzaman, S., Shehreen, S. y Sajib, A. A. 2020. Aspartame, acesulfame K and sucralose-influence on the metabolism of *Escherichia coli*. *Metabolism Open*. 8, 100072.
- Shallenberger, R.S. 1996. The AH, B glycochore and general taste chemistry. *Food Chemistry*. 56, 209-214.
- Sharma, A., Laxman, B., Naureckas, E. T., Hogarth, D. K., Sperling, A. I., Solway, J., Ober, C., Gilbert, J. A. y White, S. R. 2019. Associations between fungal and bacterial microbiota of airways and asthma endotypes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 144(5), 1214-1227.
- Shin, N.-R., Whon, T. W. y Bae, J. W. 2015. Proteobacteria: Microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends in Biotechnology*. 33(9), 496–503.
- Shively, C. A., Register, T. C., Appt, S. E., Clarkson, T. B., Uberseder, B., Clear, K. Y. J., Wilson, A. S., Chiba, A., Tooze, J. A. y Cook, K. L. 2018. Consumption

- of Mediterranean versus Western diet leads to distinct mammary gland microbiome populations. *Cell Reports*. 25(1), 47–56.
- Smeets, P. A. M., Weijzen, P., De Graaf, C. y Viergever, M. A. 2011. Consumption of caloric and non-caloric versions of a soft drink differentially affects brain activation during tasting. *Neuroimage*. 54(2), 1367–1374.
 - Smits, W. K., Lyras, D., Lacy, D. B., Wilcox, M. H. y Kuijper, E. J. 2016. *Clostridium difficile* infection. *Nature Reviews Disease Primers*. 2, 16020.
 - Sonnenburg, J. L. y Bäckhed, F. 2016. Diet–Microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature*. 535(7610), 56–64.
 - Staudacher, H. M., Scholz, M., Lomer, M. C., Ralph, F. S., Irving, P. M., Lindsay, J. O., Fava, F., Tuohy, K. y Whelan, K. 2021. Gut microbiota associations with diet in irritable bowel syndrome and the effect of low fodmap diet and probiotics. *Clinical Nutrition*. 40(4), 1861-1870.
 - Strachan, D. P. 1989. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*. 299(6710), 1259–1260.
 - Suez, J., Korem, T., Zeevi, D., Zilberman-Schapira, G., Thaiss, C.A., Maza, O., Israeli, D., Zmora, N., Gilad, S., Weinberger, A., Kuperman, Y., Harmelin, A., Kolodkin-Gal, I., Shapiro, H., Halpern, A., Segal, E. y Elinav, E. 2014. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*. 514, 181-186.
 - Sylvetsky, A. C., Brown, R. J., Blau, J. E., Walter, M. y Rother, K. I. 2016. Hormonal responses to non-nutritive sweeteners in water and diet soda. *Nutrition & Metabolism*. 13(1), 1-8.
 - Tannock, G. W. 2017. *Understanding the gut microbiota*. Wiley. New Jersey, Estados Unidos.
 - Thompson, J. L., Manore, M. M. y Vaughan, L.A. 2018. *Nutrición*. Pearson. Madrid, España.
 - Tochtani, S. 2021. Vertical transmission of gut microbiota: Points of action of environmental factors influencing brain development. *Neuroscience Research*. 168, 83-94.

- Tolhurst, G., Heffron, H., Lam, Y. S., Parker, H. E., Habib, A. M., Diakogiannaki, E., Cameron, J., Grosse, J., Reimann F. y Gribble, F. M. 2012. Short-Chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the g-protein-coupled receptor FFAR2. *Diabetes*. 61(2), 364-371.
- Tsigalou, C., Paraschaki, A., Karvelas, A., Kantartzis, K., Gagali, K., Tsairidis, D. y Bezirtzoglou, E. 2021. Gut microbiome and Mediterranean diet in the context of obesity. Current knowledge, perspectives and potential therapeutic targets. *Metabolism Open*. 9, 100081.
- Tucker, R. M. y Tan, S. Y. 2017. Do non-nutritive sweeteners influence acute glucose homeostasis in humans? A systematic review. *Physiology & Behavior*. 182, 17-26.
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Mahowald, M. A., Magrini, V., Mardis, E. R. y Gordon, J. I. 2006. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 444(7122), 1027–1031.
- Uberos, J. 2020. Microbiota perinatal: Revisión de su importancia en la salud del recién nacido. *Archivos Argentinos de Pediatría*. 118(3), e265-e270.
- Uzbay, T. 2019. Germ-Free animal experiments in the gut microbiota studies. *Current Opinion in Pharmacology*. 49, 6–10.
- Villarreal-Delgado, M. F., Villa-Rodríguez, E. D., Cira-Chávez, L. A., Estrada-Alvarado, M. I., Parra-Cota, F. I. y De-los-Santos-Villalobos, S. 2018. El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Mexican Journal of Phytopathology*. 36(1), 95-130.
- Vodovnik, M., Duncan, S. H., Reid, M. D., Cantlay, L., Turner, K., Parkhill, J., Lamed, R., Yeoman, C. J., Berg-Miller, M. E., White, B. A., Bayer, E. A., Marinsek-Logar, R. y Flint, H. J. 2013. Expression of cellulosome components and Type IV Pili within the extracellular proteome of *Ruminococcus flavefaciens* 007. *PLOS ONE*. 8(6), e65333.
- Wang, J. y Lin, L. 2021. Early-Life gut microbiota development from maternal vertical transmission. *Gynecology and Obstetrics Clinical Medicine*. 1(2), 79-82.

- Wang, M., Cao, J., Gong, C., Amakye, W. K., Yao, M. y Ren, J. 2021a. Exploring the microbiota-Alzheimer's disease linkage using short-term antibiotic treatment followed by fecal microbiota transplantation. *Brain, Behavior, and Immunity*. Article in press, doi: 10.1016/j.bbi.2021.06.003
- Wang, Q. P., Browman, D., Herzog, H. y Neely, G. G. 2018. Non-Nutritive sweeteners possess a bacteriostatic effect and alter gut microbiota in mice. *PLOS ONE*. 13(7), e0199080.
- Wang, S., Ishima, T., Qu, Y., Shan, J., Chang, L., Wei, Y., Zhang, J., Pu, Y., Fujita, Y., Tan, Y., Wang, X., Ma, L., Wan, X., Hammock, B. D. y Hashimoto, K. 2021b. Ingestion of *Faecalibaculum rodentium* causes depression-like phenotypes in resilient Ephx2 knock-out mice: a role of brain–gut–microbiota axis via the subdiaphragmatic vagus nerve. *Journal of Affective Disorders*. 292, 565-573.
- Wang, X., Lu, H., Feng, Z., Cao, J., Fang, C., Xu, X., Zhao, L. y Shen, J. 2017. Development of human breast milk microbiota-associated mice as a method to identify breast milk bacteria capable of colonizing gut. *Frontiers In Microbiology*. 8, 1242.
- Wang, Y., Li, N., Yang, J. J., Zhao, D. M., Chen, B., Zhang, Chen, S., Cao, R. F., Yu, H., Zhao, C. Y., Zhao, L., Ge, Y. S., Liu, Y., Zhang, L. H., Hu, W., Zhang, L. y Gai, Z. T. 2020. Probiotics and fructo-oligosaccharide intervention modulate the microbiota-gut brain axis to improve autism spectrum reducing also the hyper-serotonergic state and the dopamine metabolism disorder. *Pharmacological Research*. 157, 104784.
- Watanabe, N., Mikami, K., Hata, T., Kimoto, K., Nishino, R., Akama, F., Yamamoto, K., Sudo, N. Koga, Y. y Matsumoto, H. 2021. Effect of gut microbiota early in life on aggressive behavior in mice. *Neuroscience Research*.168, 95-99.
- Wells, P. M., Adebayo, A. S., Bowyer, R. C. E., Freidin, M. B., Finckh, A., Strowig, T., Lesker, T. R., Alpizar-Rodriguez, D., Gilbert, B., Kirkham B., Cope, A. C., Steves, C. J. y Williams, F. M. K. 2020. Associations between gut microbiota

and genetic risk for rheumatoid arthritis in the absence of disease: A cross-sectional study. *The Lancet Rheumatology*. 2(7), e418–e427.

- Wexler, H. M. 2007. Bacteroides: The good, the bad, and the nitty-gritty. *Clinical Microbiology Reviews*. 20(4), 593-621.
- Wilson, M. 2018. *The human microbiota in health and disease: An ecological and community based approach*. New York City: Garland Science. Pp. 101-103.
- Wu, L., Li, J., Feng, J., Ji, J., Yu, Q., Li, Y., Zheng Y., Dai, W., Wu, J. y Guo, C. 2021. Crosstalk between PPARs and gut microbiota in NAFLD. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 136, 111255.
- Wu, T., Zhao, B. R., Bound, M. J., Checklin, H. L., Bellon, M., Little, T. J., Young, R. L., Jones K. L., Horowitz M. y Rayner, C. K. 2012. Effects of different sweet preloads on incretin hormone secretion, gastric emptying, and postprandial glycemia in healthy humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 95(1), 78-83.
- Ximenez, C. y Torres, J. 2017. Development of microbiota in infants and its role in maturation of gut mucosa and immune system. *Archives of Medical Research*. 48(8), 666–680.
- Xue, L. J., Yang, X. Z., Tong, Q., Shen, P., Ma, S. J., Wu, S. N., Zheng, J. L. y Wang, H. G. 2020. Fecal microbiota transplantation therapy for Parkinson's disease: A preliminary study. *Medicine*. 99(35), 1-6.
- Ye, F., Gao, X., Wang, Z., Cao, S., Liang, G., He, D., Lv, Z., Wang, L., Xu, P. y Zhang, Q. 2021. Comparison of gut microbiota in autism spectrum disorders and neurotypical boys in China: A case-control study. *Synthetic and Systems Biotechnology*. 6(2), 120-126.
- Younge, N., McCann, J. R., Ballard, J., Plunkett, C., Akhtar, S., Araújo-Pérez, F., Murtha, A., Brandon, D. y Seed, P. C. 2019. Fetal exposure to the maternal microbiota in humans and mice. *JCI Insight*. 4(19), E127806.
- Zeraati, M., Enayati, M., Kafami, L., Shahidi, S. H. y Salari, A. A. 2019. Gut microbiota depletion from early adolescence alters adult immunological and neurobehavioral responses in a mouse model of multiple sclerosis. *Neuropharmacology*. 157, 107685.

- Zhang, J., Ma, J., Li, Q., Su, H. y Sun, X. 2021. Exploration of the effect of mixed probiotics on microbiota of allergic asthma mice. *Cellular Immunology*. 367, 104399.
- Zhao, X., Oduro, P. K., Tong, W., Wang, Y., Gao, X. y Wang, Q. 2020. Therapeutic potential of natural products against atherosclerosis: Targeting on gut microbiota. *Pharmacological Research*. 163, 105362.
- Zheng, S. Y., Li, H. X., Xu, R. C., Miao, W. T., Dai, M. Y., Ding, S. T. y Liu, H. D. 2021. Potential roles of gut microbiota and microbial metabolites in Parkinson's disease. *Ageing Research Reviews*. 69, 101347.
- Zhou, X. y Li, Y. 2015. Atlas of oral microbiology. From healthy microflora to disease. Academic Press. Amsterdam, Países Bajos.
- Zuo, F. y Marcotte, H. 2021. Advancing mechanistic understanding and bioengineering of probiotic Lactobacilli and Bifidobacteria by genome editing. *Current Opinion in Biotechnology*. 70, 75-82.