

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS

**“Repercusiones de la microbiota intestinal y la dieta
en el desarrollo y maduración del sistema
inmunológico en ratas hembra y macho de la estirpe
Wistar”**

Que para obtener el grado de:

QUIMICA DE ALIMENTOS

Salvador Negrete Lira



Ciudad Universitaria, Ciudad de México, 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



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: Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa
VOCAL: Q. F. B. Juan Manuel Díaz Álvarez
SECRETARIO: Dra. Marisela Bernal González
1^{er} SUPLENTE: Dr. Roeb García Arrazola
2^o SUPLENTE: M. en C. Rolando Salvador García Gómez

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 y en casa debido a la pandemia de SARS-CoV-2.

ASESORA DEL TEMA

María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

SUPERVISOR TÉCNICO

Rolando Salvador García Gómez

SUSTENTANTE

Salvador Negrete Lira

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 referencia a, las obras de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante recursos editoriales convencionales”

Salvador Negrete Lira

Reconocimientos

Al proyecto PAPIIT IN217619 de la DGAPA de la UNAM “Efecto del consumo de edulcorantes sobre la actividad de las enzimas reguladoras de la glucólisis y lipogénesis en extractos de hepatocitos y sus implicaciones metabólicas sobre el exceso de masa corporal y la obesidad” y al Programa de Apoyo a la Investigación y el Posgrado de la Facultad de Química de la UNAM Clave , ya que gracias a esos apoyos financieros empleados para adquirir parte de los materiales empleados durante la fase experimental permitieron tener esos resultados para complementar la investigación bibliográfica realizada durante la pandemia de Covid-19 que sustentó esta tesis.

A todo el personal académico y administrativo de los Laboratorios 301, 302 y 303 de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (LIQAYQA), así como del personal académico y administrativo de la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM por el uso de las paqueterías que conforman el sistema BiDi así como a la Coordinación de Información Documental de la Facultad de Química de la UNAM para obtener los artículos que no se podían bajar de las redes internacionales.

A la Dra.-Ing. María del Carmen Durán Domínguez, al M. en C. Rolando Salvador García Gómez y al Dr. Samuel Mendoza Pérez por su orientación, consejos y apoyo brindados durante el proyecto. A los miembros del honorable jurado por sus valiosas recomendaciones que mejoraron este documento.

Agradecimientos

A mis padres, que me han apoyado y motivado hasta este punto de mi vida,
siendo mis primeros y más importantes maestros

A ellos les dedico este logro

José de la Luz Negrete González†

Ma. Guadalupe Lira Pérez

Agradezco también a mi hermana María Joaquina Negrete Lira, que me ayudó en
innumerables ocasiones a comprender materias y tareas difíciles

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a todos los buenos maestros
que he tenido a lo largo de mi vida les agradezco su formación y paciencia
¡Muchas gracias!

A la Dra. María del Carmen Durán Domínguez le agradezco enormemente su
asesoría para la realización de esta tesis

Al M. en C. Rolando Salvador García Gómez le agradezco la asesoría técnica
brindada, así como los atinados comentarios recibidos durante la realización de la
misma

ÍNDICE

		Pág.
Declaratoria		3
Reconocimientos		4
Agradecimientos		5
I.	Índice de Tablas	8
II.	Índice de Imágenes	8
III.	Glosario	12
IV.	Resumen	15
Capítulo 1.	Problemática	17
1.1.	Introducción	17
1.2.	Hipótesis de trabajo	19
1.3.	Objetivos	20
1.3.1.	Objetivo general	20
1.3.2.	Objetivos específicos	20
Capítulo 2.	Marco teórico	21
Capítulo 3.	Metodología	26
Capítulo 4.	Resultados (Hallazgos) y discusión	27
4.1.	Modelo de estudio: Ratas de la estirpe Wistar	27
4.2.	Sistema digestivo de ratas de la estirpe Wistar	28
4.3.	Sistema inmune de las ratas Wistar	29
4.4.	Microbiota intestinal presente en ratas de la estirpe Wistar	32
4.5.	Dieta a partir del nacimiento	34
Capítulo 5.	Importancia de la microbiota intestinal en el desarrollo fisiológico de los individuos	37
5.1.	Organismos libres de gérmenes -sin microbiota intestinal- (<i>Germ-Free</i> en inglés)	37
5.2.	Desarrollo y funcionamiento del sistema inmune en conjunto con la microbiota intestinal	41
5.3.	Interacciones entre la microbiota intestinal y los órganos del sistema inmune externos al intestino	49
5.4.	Eje microbiota-intestino-cerebro	52

		Pág.
Capítulo 6.	Repercusiones a la salud generadas por el consumo de aditivos alimentarios	64
6.1.	Afectaciones de la microbiota intestinal con aditivos alimentarios	64
6.1.1.	Edulcorantes	64
6.1.2.	Otros aditivos	65
6.2.	Evaluación de las repercusiones a nivel: Fisiológico, metabólico y nutricional sobre el consumo de aditivos alimentarios	67
6.2.1.	Colorantes	68
6.2.2.	Potenciadores de sabor	70
6.2.3.	Conservadores	70
6.2.4.	Edulcorantes artificiales	72
6.2.5.	Emulsificantes	75
Capítulo 7.	Afectaciones a la salud relacionadas con la microbiota intestinal	77
7.1.	Disbiosis	77
7.2.	Enfermedades autoinmunes	81
7.3.	Inmuno-regulación con probióticos y prebióticos	86
7.4.	Repercusión de la dieta en enfermedades como obesidad, cáncer, descalcificaciones e inflamación intestinal	93
7.5.	Medicina preventiva relacionada con la microbiota intestinal	99
7.6.	Síntesis de los avances científicos de algunas enfermedades relacionadas con la microbiota	104
Capítulo 8.	Análisis y discusión de la información recopilada en la literatura	108
Capítulo 9.	Conclusiones y recomendaciones	116
9.1.	Conclusiones	116
9.2.	Recomendaciones	119
Anexo 1.	Disposición controlada de residuos	120

		Pág.
Bibliografía		123

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Datos aproximados de composición de leucocitos presentes en ratas hembra de la estirpe Wistar (Kabat-Koperska et al., 2016)	29
Tabla 2.	Datos aproximados de composición de leucocitos presentes en ratas macho de la estirpe Wistar (Yakubu y Afolavan, 2008)	30
Tabla 3.	Inmunoglobulinas presentes en diferentes especies (Haley, 2003)	31
Tabla 4.	Relación de masa corporal perdida contra el consumo de goma arábica suministrada a diferentes dosis a ratas de estirpe Wistar (Longdet et al., 2018)	75
Tabla 5.	Ejemplos de algunas de las enfermedades relacionadas con la microbiota intestinal	104

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 4.1.	Rata de la estirpe Wistar (<i>Ratus norvericus</i>) - Fotografía de Bárbara Vargas Miranda, (Vargas-Miranda et al., 2018)	27
Imagen 4.2.	Órganos principales del sistema digestivo de ratas Wistar; 1.- Estomago, 2.-Duodeno, 3.- Yeyuno, 4.- Íleon, 5.-Ciego, 6.- Colon (Hernández-Hernández, 2018)	28
Imagen 4.3.	Porcentaje de abundancias relativas de los géneros más representativos en la microbiota intestinal de ratas Wistar alimentadas con dieta estándar (modificado de Gual-Grau, 2019)	34
Imagen 4.4.	Ratas de la estirpe Wistar en etapa lactante junto a su madre (Vargas-Miranda et al., 2018)	36
Imagen 5.1.	Tumor espontáneo en la próstata de una rata macho libre de gérmenes de la estirpe Wistar (Carter y Foster, 2006)	40
Imagen 5.2 .	Comparaciones de las concentraciones de inmunoglobulinas IgM, IgG e IgE en suero de ratas de la estirpe Wistar, de laboratorio versus ratas de otra estirpe (modificado de Devalapalli et al., 2006)	43
Imagen 5.3.	Concentraciones generales de inmunoglobulinas IgM, IgG e IgE de ratas de estirpe Wistar de laboratorio comparadas	43

		Pág.
	contra ratas de otra estirpe (modificado de Devalapalli et al., 2006)	
Imagen 5.4.	Concentraciones de inmunoglobulinas IgG1, IgG2a, IgG2b e IgA en suero, así como IgA fecal en ratas de la estirpe Wistar tras ingerir polifenoles de cacao, por 28 días (modificado de Massot-Cladera et al., 2014)	46
Imagen 5.5.	Efectos del consumo de polifenoles de cacao en las células de los nódulos linfáticos mesentéricos y las placas de Peyer. Las barras de color negro son el grupo de referencia, las blancas el grupo que consumió un 0.2%, las barras naranjas un 0.4%, y las barras azules un 0.8% de polifenoles de cacao en la dieta (modificado de Massot-Cladera et al., 2014)	47
Imagen 5.6.	Abundancias relativas (%) de 3 grupos: Firmicutes, Proteobacteria y Actinobacteria con 3 de los géneros más representativos de cada uno en 4 grupos distintos de ratas Wistar: N (control inmaduro), EE (<i>Echinacea purpurea</i>), P (pidotimod®) y 14 w (control de 14 semanas) en el estudio de Wang et al. (2017)	50
Imagen 5.7.	Comparación del cerebro humano y el cerebro de rata. En contraste con los roedores, las respuestas subjetivas, estructurales, funcionales y las firmas cerebrales son lecturas adecuadas en sujetos humanos (modificado de Mayer et al., 2015)	57
Imagen 5.8.	14 metabolitos y 17 Phyla estudiadas por Chen et al en 2018 en ratas de la estirpe Wistar, respecto a 7 puntos específicos de tiempo (modificado de Chen et al., 2018)	59
Imagen 5.9.	Estructuras químicas del ácido butírico, isobutírico, butirato, D-β-ácido hidroxibutírico y ácido láctico (modificado de Stilling et al., 2016)	61
Imagen 5.10.	Rutas bioquímicas de obtención de butirato, propionato e hidroxibutirato a partir de fibra dietética. En rojo se muestran las rutas realizadas por las células del hospedero y en azul las realizadas por microorganismos (modificado de Stilling et al., 2016).	61
Imagen 5.11.	Diagrama que ejemplifica la comunicación de la microbiota intestinal productora de butirato con el epitelio intestinal. A su vez, se muestra la comunicación del epitelio intestinal con el resto del organismo a través de serotonina y neuropéptidos (modificado de Stilling et al., 2016)	62
Imagen 6.1.	Estructura química de la tartrazina (Restrepo Gallego, 2007)	68
Imagen 6.2.	Estructura química de la eritrosina (Anónimo, 2019a)	69
Imagen 6.3.	Estructuras químicas de la curcumina en sus formas ceto y enol (Anónimo, 2021)	69

		Pág.
Imagen 6.4.	Estructura química del monoglutamato de sodio (Anónimo, 2022a)	70
Imagen 6.5.	Estructura química del sulfito de sodio anhidro (Anónimo, 2022b)	71
Imagen 6.6.	Estructura química del benzoato de sodio (Anónimo, 2021b)	71
Imagen 6.7.	Estructura química del acesulfame de potasio (Anónimo, 2019b)	72
Imagen 6.8.	Estructura química de la sucralosa (Anónimo, 2022c)	72
Imagen 6.9.	Estructura química de la sacarina (Anónimo, 2022d)	73
Imagen 6.10.	Estructura química del aspartame (Anónimo, 2022e).	74
Imagen 6.11.	Estructura química de la sucralosa (Anónimo 2022f)	75
Imagen 6.12.	Estructura de la goma arábica, un polisacárido conformado por: D-galactosa (Gal), L-arabinosa (Ara), ácido D-glucurónico (GUA) y L-ramnosa (Rha) (Vicente, 2018)	75
Imagen 7.1.	Desbalances que pueden ocurrir en la microbiota intestinal, así como sus correcciones con probióticos (modificado de Stojanov et al., 2020)	78
Imagen 7.2.	Cambios observados en la microbiota intestinal tras el suministro de cafeína y guaraná, comparados con un grupo control de ratas Wistar saludables (modificado de Silveira et al., 2018)	79
Imagen 7.3.	Cambios observados en las proporciones de Firmicutes y Bacteroidetes tras el suministros de cafeína y guaraná. (modificado de Silveira et al., 2018)	79
Imagen 7.4.	Comparación de la cantidad de monocitos (A), neutrófilos (B), linfocitos (C), y leucocitos (D) de ratas que consumieron queso común y queso con probiótico (modificado de Lollo et al., 2012)	91
Imagen 7.5.	Generación de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) por degradación bacteriana de carbohidratos no digeribles, su reconocimiento en GPR41 y GPR43 así como su traslado a células del intestino para la formación de gluconeogénesis (GNG) y su traslado a células L, productoras de PYY y GLP-1, (sensación de saciedad en el cerebro). Del mismo modo, los AGCC inducen aumento de AMPK, oxidación de AGCC en el hígado y secreción de leptina (Modificada de Gual-Grau, 2019)	95
Imagen 7.6.	Abundancia relativa de los géneros bacterianos más alterados por distintas dietas en la microbiota intestinal de ratas Wistar: (STD) la dieta estándar, (CAF) la dieta de cafetería, (LF) la dieta baja en grasa, (HF) la dieta alta en grasas y (HFS) la dieta alta en grasas y sacarosa (modificado de Gual-Grau, 2019)	96

		Pág.
Imagen 7.7.	Estructura química de la quercitina (Anónimo, 2010)	97
Imagen 7.8.	Estructura química del resveratrol (Anónimo, 2022f)	97
Imagen 7.9.	Estructura química de la genisteína (Anónimo, 2020)	98
Imagen 7.10.	Millones de dólares gastados en atender pacientes con diabetes en varios países de América Latina, comparando los datos del año 2000, 2010 y presentando un costo aproximado para el año 2025 (Arredondo, 2014)	100
Imagen 7.11.	Las 10 principales causas de muerte en México en el año 2021 reportadas por INEGI (INEGI, 2022)	101
Imagen 7.12.	Las 10 principales causas de defunción reportadas a nivel mundial hasta diciembre de 2020 (OMS, 2020)	102
Imagen A1	Diagrama esquemático de las actividades y los residuos que se produjeron (modificada de Rodríguez-Ramírez, 2022)	119

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Abundancia relativa	Proporción de una especie o taxón respecto a todas las especies o taxones contenidos en un sitio, en forma simple es cuan común o rara es una especie o taxón en comparación con el resto
Adiposidad	Acumulación o exceso de tejido adiposo
Anafiláctico	Reacción alérgica extremadamente grave, que se da en todo el organismo tras la exposición a un alérgeno
Alimentación enteral	Tipo de nutrición mediante la cual se suministran los nutrientes necesarios a un paciente a través de una sonda, directamente al sistema digestivo
Bypass gástrico	Técnica de cirugía bariátrica utilizada para tratar la obesidad mórbida. Se considera un procedimiento mixto: Restrictivo y malabsortivo.
Ciencias ómicas	Neologismo usado para referirse a las ciencias que permiten estudiar un gran número de moléculas implicadas en el funcionamiento de un organismo, como genes, proteínas o, incluso las relaciones entre ellas
CD	Células dendríticas
Citocinas	Proteínas de baja masa molecular que son cruciales para controlar el crecimiento y la actividad de otras células del sistema inmunitario y células sanguíneas. Su liberación le envía una señal al sistema inmunitario. Concretamente las quimiocinas provocan que las células inmunitarias se muevan hacia un objetivo específico. Existen distintos tipos de quimiocinas: Interleucinas, Interferones, factores de necrosis tumoral y factores de crecimiento
Criptoparches	Agregados de células T y células dendríticas en el tejido linfóide asociado con el intestino
Desmielinización	Lesión de la cubierta protectora que rodea las fibras nerviosas
ECC	Células enterocromafines (por sus siglas en inglés)
EEC	Células enteroendócrinas (por sus siglas en inglés)
Eficiencia alimentaria	Indicador que evalúa la transformación de nutrientes ingeridos por un individuo en componentes biológicos necesarios para su organismo
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
Epitelio intestinal	Capa de células que recubre la superficie del intestino, en el cual ocurre la absorción de nutrientes
Eritematoso	Referencia al enrojecimiento de la piel

Estrés oxidativo	Consecuencia del desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno y la capacidad biológica de neutralizar los reactivos o bien reparar el daño causado en un individuo
Farmacocinética	Rama de la farmacología que estudia los procesos a los que un fármaco es sometido durante su paso en el organismo de un individuo
Fenotipo	Rasgos observables de un individuo que son producidos por su expresión genética
Firmas cerebrales	Señales eléctricas y químicas específicas de ciertas regiones cerebrales al responder ante un estímulo concreto.
Genéticamente susceptible	Mayor probabilidad de desarrollar una afección particular por la composición genética del individuo
Genoma	Conjunto de material genético
Hematopoyesis	Formación de células sanguíneas a partir de una célula madre pluripotencial
IFN	Interferón
IL-2, 4, 5, 13	Interleucina tipo 2, 4, 5, 13
<i>In vitro</i>	Fuera del organismo del individuo
Inflamación sistémica	Elevación en los niveles circulantes de citocinas inflamatorias, así como del aumento de la infiltración de macrófagos periféricos en un individuo
Inoculación	Introducción de algo que crecerá y se reproducirá, mayoritariamente referido a microorganismos
Inmunomodulación	Manipulación específica del sistema inmunitario mediante señalizaciones químicas o bioquímicas que activan o inactivan su función según la necesidad o afección de un individuo
Interferones	Grupo de citocinas señalizadoras producidas como respuesta a la presencia de un patógeno (virus, bacterias o parásitos)
Interleucinas	Grupo de citocinas que actúan como señales químicas entre los glóbulos blancos. Algunos tipos de interleucinas ayudan a que las células del sistema inmunitario crezcan y se dividan con mayor rapidez
kg.m.c.	Kilogramo de masa corporal
Leucocitos	Tipo de glóbulo sanguíneo producido por la médula ósea, encontrados en la sangre y el tejido linfático. Son parte del sistema inmunitario y existen varios tipos: Granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), los monocitos y los

	linfocitos (células <i>B</i> y <i>T</i>)
Masa	Cantidad de materia o sustancia que posee un cuerpo u objeto material
Metabolito	Cualquier sustancia producida durante el metabolismo de algún organismo
Metaboloma	Conjunto completo de metabolitos de interés
Metaboloma cerebral	Conjunto completo de metabolitos que se pueden encontrar en una muestra cerebral
<i>Natural Killers</i>	Células asesinas naturales por su traducción del inglés, son linfocitos producidos en la médula ósea, y su función principal está mediada por la producción de citocinas y actividad citotóxica
Neurotoxicidad	Tendencia de sustancias a dañar el sistema nervioso
NK	Célula asesina natural por su nombre en inglés (<i>natural killer</i>)
NKT	Tipo específico de linfocito <i>T</i> que, además, cumple con algunas funciones celulares de las células NK
Nociceptivas	Termino referente al mecanismo de transducción del dolor en una señal nerviosa
NST	Núcleo subtalámico
Organismos libres de gérmenes (Germ-free)	Individuos multicelulares que no tienen más organismos viviendo dentro o sobre ellos, es decir, que están totalmente libres de virus, bacterias, hongos, parásitos o cualquier otra forma de vida que no sea la de ellos mismos
Peso	Fuerza con la cual la gravedad atrae un determinado cuerpo
<i>Phyla</i>	Categoría taxonómica situada entre el reino y la clase
Prebióticos	Alimentos que estimulan el crecimiento de microorganismos en el intestino, normalmente actúan como nutrientes de la microbiota intestinal benéfica
Probióticos	Alimentos que contienen microorganismos vivos, generalmente benéficos
Receptores	Proteínas celulares que reconocen y fijan moléculas provenientes del exterior de la célula para permitirles interactuar con los mecanismos bioquímicos del metabolismo celular, pueden estar situados en la membrana plasmática o bien en el interior de la célula
Suprafisiológicas	Definición médica de una dosis mayor a la que normalmente se encuentra en el organismo de un individuo
TGF-21	Factor de crecimiento transformante veintiuno

TGF-β2	Factor de crecimiento transformante beta-dos
Transportadores	Proteínas celulares ubicadas en la membrana que permiten transferir moléculas entre el interior y exterior de la célula para diversas funciones metabólicas y bioquímicas, como la nutrición, el uso de fármacos, señalizaciones o excreciones
T	Células del sistema inmunitario que llevan a cabo su maduración en el timo, también llamadas Timocitos
Th1 / Th2	Tipos de linfocitos colaboradores (<i>T helper</i>) que secretan distintos tipos de citocinas y se diferencian mediante distintos tipos de interleucinas. El desequilibrio entre estos dos tipos de poblaciones genera respuestas inmunológicas anormales favoreciendo afecciones e inflamaciones alérgicas. Th1: Se estimulan por Bacterias, virus y patógenos intracelulares, secretan citocinas IL-2 y IFN gamma Th2: Se estimulan por Patógenos extracelulares, parásitos y alérgenos, secretan citocinas IL-4, IL-5 e IL-13
Treg	Células T reguladoras que ayudan a controlar respuestas inmunitarias con el fin de prevenir reacciones autoinmunes

Notas:

Esta tesis usa el punto final (DOF, 2009) y los guarismos van junto al % y °C.

No se usan cursivas para las abreviaturas de las locuciones latinas et cetera y et altere (etc., et al.), solamente para las palabras y siglas en otros idiomas incluida la lengua muerta latín.

RESUMEN

La microbiota intestinal ha sido en los últimos años un tema de suma importancia en la investigación a nivel mundial. Esto prevalece gracias a las nuevas tecnologías de secuenciación que permiten contar con una visión más amplia sobre las repercusiones benignas o no las cuales son causadas en el organismo por otros seres vivos. En este contexto, las ratas de la estirpe Wistar han sido una de las especies preferidas por la comunidad científica para realizar estudios de investigación sobre el desarrollo del sistema inmune, el sistema digestivo y la microbiota intestinal. La dieta a partir del nacimiento tiene una repercusión crucial sobre la microbiota intestinal en los individuos pero, sobre todo, repercute en su sistema inmunológico y digestivo. Lo anterior ha sido documentado gracias a la observación en las variaciones de la dieta y los cambios que ocasionan en los individuos. Por otro lado, los aditivos alimentarios han sido de gran interés para la industria alimentaria debido a las amplias aplicaciones que se les pueden dar para conservar los alimentos y bebidas e impartirles características deseables. La investigación científica en torno a ellos ha sido de crucial importancia para demostrar su inocuidad, sobre todo, en aquellos aditivos que de manera directa o indirecta pueden causar afectaciones en la microbiota intestinal. De esta manera, su consumo puede repercutir en la salud de los consumidores por los cambios fisiológicos, metabólicos o nutricionales provocados en ambos, la microbiota y el consumidor(a) mismos. En muchas ocasiones este consumo puede provocar una disbiosis (desequilibrio entre la microbiota intestinal que afecta la salud en diversas formas. Los probióticos y prebióticos específicos pueden otorgar al individuo una mejora o un sostenimiento de su eubiosis). Del mismo modo, los organismos carentes de microbiota llamados “organismos libres de gérmenes” o “*germ free*” (por nombre en inglés), tienen afectaciones particulares hacia la salud, siendo un buen modelo de estudio para conocer más sobre la importancia de la microbiota intestinal. Finalmente, hay una gran variedad de estudios que hablan sobre diversas enfermedades en relación con la calidad y proporciones de la microbiota intestinal, tales como el cáncer, descalcificaciones, inflamaciones intestinales, afectaciones cardiacas e, incluso, enfermedades neurológicas. Por ello en este trabajo se buscó recopilar suficiente evidencia científica sobre los efectos que presenta la microbiota intestinal en el desarrollo del sistema inmune y digestivo, así como sus afectaciones por el consumo de aditivos alimentarios ejemplificando con los edulcorantes nutritivos y no nutritivos en ratas de la estirpe Wistar.

Palabras clave: Microbiota intestinal, aditivos alimentarios, sistema inmunológico, ratas de la estirpe Wistar, desarrollo y funcionamiento del sistema inmune

CAPÍTULO 1

PROBLEMÁTICA

1.1. Introducción

El estudio de la microbiota intestinal ha tenido un gran avance en los últimos años gracias a las tecnologías de secuenciación y al desarrollo de herramientas bioinformáticas. En la actualidad, es posible conocer con una mayor profundidad dicha composición, teniéndose la posibilidad de contar con un mejor conocimiento sobre la repercusión que presenta la microbiota en el desarrollo del sistema inmune (Robles-Alonso y Guarner, 2013). En varios estudios como los de Arumugam et al. (2011) y Bayona-González (2019) se ha confirmado el hecho de que la dieta afecta considerablemente la composición y diversidad de la microbiota intestinal. También posee una fuerte repercusión sobre la regulación del sistema inmunológico, por lo que es muy probable que ocurra de manera similar en la nutrición humana, convirtiéndose esta relación en el objeto de estudio de esta tesis de licenciatura (Alarcón et al., 2016).

Como un modelo de estudio general apegado a las metodologías actuales, las ratas albinas de la estirpe Wistar, tienen una cercanía con el ser humano debido a sus similitudes en los dos principales sistemas de estudio: Digestivo e inmunológico, ya que a nivel celular y de tejidos, son análogos a los del ser humano y es por ello que una gran mayoría de investigadores eligen esta estirpe de ratas cuando se trata de estudiar ambos sistemas (Dzhalilova et al., 2020; Hernández-Hernández, 2018; Vargas-Miranda et al., 2018;).

Del mismo modo, aunque la microbiota intestinal de esta estirpe de ratas no es totalmente similar a la del ser humano, sí tiene varios funcionamientos y papeles fundamentales compartidos, como por ejemplo, la regulación de adiposidad,

obesidad y la gran participación en procesos bioquímicos relacionados con la nutrición. Sin embargo, uno de los de mayor importancia y relevancia médica es el de la participación en el desarrollo y funcionamiento del sistema inmune, siendo una ayuda a la protección e incluso un foco de observación para la explicación de diversas enfermedades y afecciones a la salud (Hansen et al., 2012; Icaza-Chávez, 2013).

Para observar a detalle la microbiota intestinal, así como el desarrollo inmunológico y digestivo, se puede partir de las observaciones de la dieta, ya que es el principal contacto con el ambiente externo. Es por ello, que el primer alimento cobra una gran relevancia, ya que este definirá el adecuado crecimiento del epitelio intestinal, una correcta colonización y permeabilidad y las primeras defensas obtenidas de la madre (ya que comúnmente el primer alimento de los mamíferos es la leche materna) (García-López, 2011; Torres-Castro et al., 2018; Torres-Castro et al., 2020).

Para poder estudiar con debida profundidad las repercusiones de la microbiota intestinal en un organismo, un primer acercamiento es observar las diferencias con organismos sin microbiota intestinal, también llamados *Germ-Free*. Este tipo de organismos son mantenidos en condiciones estériles desde su nacimiento con el fin de no albergar ninguna otra forma de vida más que la propia. Ponen diferencias significativas con sus homólogos convencionales, ya que tienen distinciones fisiológicas de gran relevancia como son las degeneraciones en órganos como el corazón o el intestino, hasta otros cambios de mucha mayor importancia como es en su cerebro o la presencia de cáncer. Estos modelos de estudio han sido sumamente comunes en la investigación, ya que su sistema digestivo como inmunológico resultan ser sistemas “ingenuos” que no funcionan debidamente dado que su desarrollo y funcionalidad se vieron limitadas por la falta de microbiota intestinal (King y Russell, 2006; Liu et al., 2012; Vannucci et al., 2007).

Por lo que, una vez comprendido el funcionamiento del organismo sin presencia de microorganismos, es posible comprender con una mayor profundidad el

funcionamiento inmune en conjunto con ellos, desde su primer día de vida, observando y notando los cambios que acompañan dicho desarrollo, ya que tampoco el sistema inmune se encuentra debidamente desarrollado en el nacimiento (por cuestiones evolutivas). En el primer día de vida la exposición microbiana juega un papel notable en el desarrollo de los individuos, ya que las evidencias sugieren que la exposición al medio genera, tanto la correcta colonización del intestino como un adecuado entrenamiento del sistema inmune. Lo anterior se aprecia al comparar esta vez no con organismos libres de gérmenes sino con individuos que simplemente recibieron una exposición menor a su medio o bien tuvieron un ambiente con exceso de higiene.

Además del exceso de higiene, otros factores que se relacionan con un mal desarrollo del sistema inmune es el presentar poca o nula actividad física y un mayor consumo de alimentos industrializados. Lo anterior, en conjunto, tiene que ser observado: El adecuado desarrollo del sistema digestivo, la correcta alimentación y una adecuada exposición al medio para intentar comprender con mayor profundidad el adecuado desarrollo y funcionamiento del sistema inmune (Devalapalli et al., 2006; Martin et al., 2010; Massot-Cladera et al., 2014; Salazar et al., 2014).

1.2. Hipótesis de trabajo

El tipo de dieta suministrada a las ratas hembra y macho de la estirpe Wistar influye sobre la microbiota intestinal y la maduración del sistema inmune.

A continuación, se presentan los objetivos específicos de esta investigación en el marco de un objetivo general:

Dado el contexto anterior, en este trabajo se estudiarán artículos que reportan resultados de estudios murinos que se puedan usar para probar la hipótesis, con el objeto de evaluar las repercusiones microbiológicas a nivel intestinal que pudieran presentar estos organismos dependiendo del tipo de

dieta suministrada y el funcionamiento de su sistema inmune. Para ello, se revisaron diversas fuentes bibliográficas (artículos de investigación y artículos de revisión) en las bases de datos de la Biblioteca Digital de la UNAM, BiDi (Elsevier Scopus, ScienceDirect, Springer, ProQuest, SciFinder), así como libros digitales consultados en la misma biblioteca y la búsqueda a través de bases de datos abiertos independientes de la UNAM. Con esta información se verá si los cambios en estos factores (dieta suministrada y sistema inmune) provocan cambios capaces de alterar la eubiosis y/o disbiosis de esta especie animal.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Estudiar en un modelo animal las repercusiones sobre la microbiota intestinal y la maduración del sistema inmunológico dependiendo del tipo de dieta suministrada.

1.3.2. Objetivos específicos

- Comprender la relación entre la microbiota intestinal y el correcto funcionamiento del sistema inmune en ratas hembra y macho de la estirpe Wistar
- Analizar información publicada en artículos científicos con el fin de identificar la microbiota intestinal sana encontrada de manera habitual en ratas Wistar y sus cambios en situaciones de eubiosis y disbiosis, teniendo en consideración la presencia de organismos patógenos
- Establecer una relación entre el consumo de aditivos alimentarios ejemplificando con uno de ellos y su repercusión en la microbiota intestinal en ratas de la estirpe Wistar
- Abordar el efecto de la microbiota intestinal frente a su capacidad de desarrollo de un exceso de masa corporal y obesidad, así como también de enfermedades como la diabetes *mellitus*, el cáncer, la inflamación intestinal y la descalcificación

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

Los seres humanos cuentan con alrededor de 20,000 genes que codifican productos funcionales como son las proteínas. Entre ellos están los genes necesarios para realizar la digestión. En contraste, el genoma de los consorcios bacterianos posee una cantidad superior de aproximadamente 500,000 genes y por ende, es posible esperar que dicho genoma aporte una mayor cantidad de proteínas digestivas necesarias para el ser humano. Un ejemplo concreto son las enzimas que ayudan a metabolizar a los carbohidratos. El ser humano únicamente produce 17 de estas enzimas con su genoma, mientras que los microorganismos presentes en el tracto digestivo producen cerca de 200 enzimas activas para metabolizarlos. El avance de las ciencias 'ómicas' (en particular las tecnologías de secuenciación), permiten tener una visión más amplia, así como una descripción detallada de los diferentes miembros que forman la comunidad bacteriana y de su abundancia relativa. Esto no sucedía con anterioridad debido a las limitaciones de las técnicas tradicionales las cuales han ido evolucionado a lo largo del tiempo (Korpela, 2018; Robles-Alonso y Guarner, 2013).

La microbiota intestinal es definida como el conjunto de microorganismos tales como bacterias, levaduras, virus y algunas arqueas que viven en el intestino. La mayor parte de ella reside en el intestino grueso, en donde se ubica principalmente la biodegradación bacteriana (Korpela, 2018). Los microorganismos juegan un papel muy importante, especialmente en la síntesis de vitaminas, la protección contra microorganismos patógenos y la mejora sobre el funcionamiento del sistema inmune (Gual-Grau, 2019).

Del mismo modo, la falta de la microbiota intestinal o de su correcta colonización en el intestino, produce diversas afectaciones, no solamente de salud, sino

también de un completo desarrollo de cada individuo. Esto se menciona en la teoría de la higiene la cual 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, desarrollando respuestas proinflamatorias y efectos adversos de manera permanente (Strachan, 2000). Los mamíferos que se desarrollan en condiciones libres de gérmenes o denominados "*Germ free*" (por su nombre en inglés), poseen un desarrollo corporal deficiente presentando una pared intestinal atrófica, un corazón, pulmones e hígado de baja masa, así como un sistema inmune inmaduro con niveles de inmunoglobulinas notablemente bajos. A su vez, los individuos libres de gérmenes se utilizan para diversos estudios por su fuerte respuesta ante algunas enfermedades como, por ejemplo, el cáncer. Lo anterior es ocasionado debido a que su sistema inmune, el cual no ha sido entrenado, combate en ocasiones de maneras más eficientes este tipo de enfermedades llegando incluso a ser eximidos de presentar algunas enfermedades comunes que presentan algunos individuos convencionales (Icaza- Chávez, 2013; King y Rusell, 2006; Li, 2014; Vannucci et al., 2007).

El sistema inmune es el encargado de combatir enfermedades e infecciones, mostrando una relación estrecha con la microbiota intestinal y la dieta durante su etapa de maduración y desarrollo (Hansen et al., 2012; Hooper y Macpherson, 2010).

El sistema inmune en la región intestinal es posiblemente la parte más compleja de todo el sistema, por lo que su estudio es importante ya que es fundamental para el correcto desarrollo de todo el sistema inmune. Por ello, la relación simbiótica inadecuada entre el hospedero y su microbiota pueden definir problemas para la salud provocando diversas afectaciones las cuales repercuten en la presencia de varias enfermedades (Hansen et al., 2012).

La microbiota tiene una cercana dependencia con los patrones dietéticos presentados a corto y largo plazos en la vida del individuo, ya que se ha

demostrado en varias especies de mamíferos, que los cambios en la dieta influyen considerablemente en la composición y funcionamiento de la microbiota (Gual- Grau, 2019). Debido a que los patrones dietéticos repercuten sobre la composición y funcionamiento de la microbiota es de gran importancia el estudio de los aditivos alimentarios. Estas sustancias se encuentran presentes en prácticamente todos los productos elaborados por la industria alimentaria. Se emplean porque supuestamente generan ciertos beneficios en los productos como son el aumento de su vida de anaquel. Sin embargo, muchos de los aditivos alimentarios, aún requieren de pruebas que avalen su inocuidad incluida en esta característica la no alteración del metabolismo, ya que estos aditivos pueden o no tener influencia en la microbiota intestinal (Cao et al., 2020).

Dada la naturaleza química de los aditivos, repercutirán en mayor o menor medida sobre la salud del individuo que los consuma. De la misma manera, las repercusiones sobre la microbiota intestinal de los aditivos alimentarios tienen muchas variables, como son las dosis, los tiempos de consumo, las formas de consumo, la matriz alimentaria donde se consume, la edad del consumidor, así como posibles efectos sinérgicos entre varios de ellos. Varios aditivos tienen consecuencias no solamente en la microbiota intestinal, sino también, en los efectos sobre los órganos o células que producen cambios nutricionales y fisiológicos de interés. Debido a lo expuesto anteriormente los estudios sobre los aditivos alimentarios son de suma importancia, aún cuando haya sido aprobado su uso y comercialización (Cao et al., 2020).

En el mismo contexto de investigación, se han encontrado fundamentos para afirmar la participación de la microbiota intestinal en diversas enfermedades, tales como la obesidad, la diabetes *mellitus*, el cáncer colorrectal, la inflamación intestinal, descalcificaciones, enfermedades cardiovasculares e incluso repercusiones directas sobre enfermedades neurológicas, presentando nuevamente el énfasis en la salud humana (Cao et al., 2020).

Existen diversas enfermedades que se producen únicamente por deficiencias entre la microbiota intestinal. Estas poseen un especial interés por las posibles aplicaciones en tratamientos médicos que puedan corregirlas. En este sentido, los investigadores recientemente han relacionado a las enfermedades autoinmunes con la microbiota intestinal. Las estimulaciones provenientes de este conjunto microbiota-intestino junto con la permeabilidad intestinal y la disbiosis podrían terminar en una sobreestimulación del sistema inmune y, por lo tanto, provocar que la inflamación sistémica termine dañando órganos o tejidos sanos (Opazo et al., 2018; Xu et al., 2019).

Tanto la inmunidad sobreexpresada como la baja inmunidad, pueden ser controladas o estimuladas con probióticos y prebióticos específicos. Lo anterior lo han señalado investigadores denominando este efecto como inmunomodulación. Este efecto funciona mediante la supresión o estimulación con fines benéficos al sistema inmune. Todo esto sucede a través del control relativo de la microbiota intestinal, ya sea con el uso de probióticos, prebióticos o incluso con alimentos que actúen de maneras similares, ya sea para un acompañamiento de un tratamiento médico o como un tratamiento preventivo natural (Borrue, 2007; Shanahan, 2001).

Es por ello que el futuro de la medicina preventiva se basará quizás en estos parámetros biológicos de un individuo: La microbiota intestinal, la colonización del epitelio intestinal, la dieta y el correcto desarrollo del sistema inmune. Todos estos factores se vuelven el objeto de estudio con sus distintas relaciones, características y consecuencias (Nagpal, et al., 2014).

Con la finalidad de entender mejor los factores anteriormente propuestos, la comunidad científica ha optado por su estudio empleando animales modelo de laboratorio para comprender la influencia que tiene cada uno de los factores mencionados. Entre ellos, se encuentran las ratas de la estirpe Wistar debido a que estos animales modelo poseen una similitud en cuanto a la fisiología y bioquímica humana, así como en el desarrollo de órganos clave para el

funcionamiento de sus sistemas. Los efectos de los aditivos alimentarios podrían determinarse con la ayuda de algunas observaciones histológicas, inmunohistoquímicas entre otras técnicas. Particularmente, las similitudes de mayor interés en la comunidad científica han sido las provenientes de la fisiología de su sistema digestivo, de su sistema inmune (en relación con sus tejidos, células e incluso su diversidad de proteínas) y de ciertas proporciones de *Phyla* bacterianos. Con lo anterior es posible asociar los efectos de diversas enfermedades presentes en ellas. De igual modo que como sucede con los humanos, es así una manera sencilla de emular las condiciones que generan, curan o influyen sobre diversas enfermedades de interés en la investigación médica (Hernández-Hernández, 2018).

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA

La metodología empleada comprendió la búsqueda de información de manera digital (artículos de investigación y artículos de revisión) en las bases de datos de la Biblioteca Digital de la UNAM, BiDi (*Elsevier Scopus, ScienceDirect, Springer, ProQuest, SciFinder*), así como libros digitales consultados en la misma biblioteca y la búsqueda a través de bases de datos abiertos independientes de la UNAM.

Debido a las características de confinamiento ocasionadas por el COVID-19, no se hizo uso de datos experimentales de ningún tipo; por lo que la investigación realizada fue de tipo documental. El procedimiento de ejecución fue el siguiente: Una vez que fueron encontrados los artículos de interés, se procedió a realizar su lectura, interpretación, análisis, abstracción y discernimiento de cada uno. Con ello, el enfoque que se buscó en los artículos se encontró relacionado con los siguientes incisos:

- a) La relación de la microbiota intestinal con el desarrollo y maduración del sistema inmune en ratas hembra y macho
- b) El desarrollo de enfermedades autoinmunes, inflamatorias, intestinales, enfermedades no transmisibles y alergias con la microbiota intestinal
- c) La relación entre la dieta y el desarrollo de la microbiota intestinal
- d) La composición y diversidad de la microbiota intestinal en función de la dieta

CAPÍTULO 4

RESULTADOS (HALLAZGOS) Y DISCUSIÓN

4.1. MODELO BAJO ESTUDIO (Ratas de la estirpe Wistar)

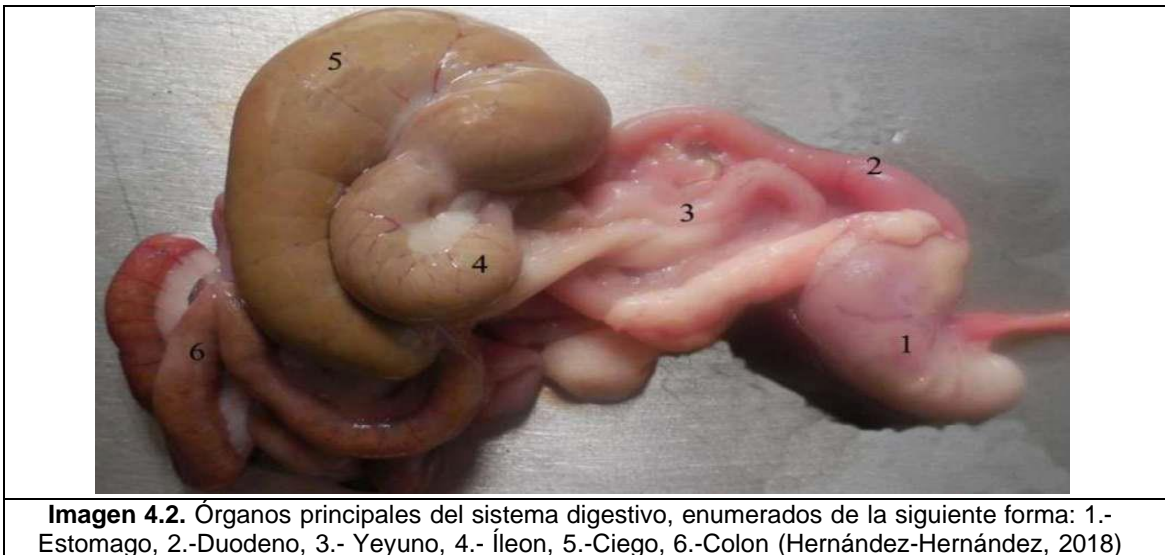
Las ratas de la estirpe Wistar (Imagen 4.1) son ratas albinas desarrolladas en el Instituto Wistar de Filadelfia, Pensilvania, Estados Unidos, en el año de 1906. Estas ratas fueron seleccionadas con fines de investigación biológica y médica. Se caracterizan por tener cabeza ancha, orejas largas y una longitud de cola inferior a la del cuerpo, con tamaño poblacional promedio de 9.5 crías por camada. Son de crecimiento lento y una mayor docilidad en comparación con sus variedades de estirpe. Su taxonomía tiene la siguiente clasificación: Reino: *Animalia*, Filo: *Chordata*, Clase: *Mammalia*, Orden: *Rodentia*, Familia: *Muridae*, Subfamilia: *Murinae*, Suborden: *Myomorpha*, Género: *Rattus*, Especie: *Rattus norvegicus* (Hernández-Hernández, 2018; Vargas-Miranda et al., 2018).



Imagen 4.1. Rata de la estirpe Wistar (*Rattus norvegicus*) (Vargas-Miranda et al., 2018)

4.2. Sistema digestivo de ratas de la estirpe Wistar

El sistema digestivo de las ratas Wistar es de los preferidos por la comunidad científica para estudiar la fisiología de la digestión. Esta estirpe se alimenta principalmente de noche y es coprófaga. Poseen un sistema que se encuentra formado por órganos capacitados en la recepción, reducción mecánica, digestión química, absorción del alimento y de la bebida, así como de la eliminación de residuos no absorbidos. En orden, las partes de este sistema son: Cavity oral, esófago, duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon, recto y ano mostradas algunas de ellas en la Imagen 4.2 (Hernández-Hernández, 2018).



En la rata, el estómago tiene dos porciones, glandular y no glandular. También se encuentran como parte del sistema las glándulas salivales, el hígado y el páncreas, las cuales vierten sus secreciones dentro del tubo digestivo. El sistema digestivo controla 5 funciones que son: Motilidad, secreción, digestión, absorción y almacenamiento. Estas son orquestadas por medio de un sistema intrínseco y extrínseco. Está formado por nervios y secreciones endócrinas¹. Los elementos del sistema nervioso intrínseco se encuentran entre las distintas capas del tubo

¹ Señales químicas secretadas en el torrente sanguíneo

digestivo, mientras que las de control extrínseco, se encuentran fuera de las paredes del tracto digestivo. El sistema nervioso intrínseco presenta dos componentes: El sistema nervioso enteral y las hormonas digestivas (gastrina, péptido inhibidor gástrico, colecistocinina, secretina y motilina) (Hernández- Hernández, 2018).

4.3. Sistema inmune de las ratas Wistar

El sistema inmune de las ratas Wistar es análogo al del ser humano: Una red de células, tejidos y órganos especializados en reconocer sustancias extrañas y microorganismos patógenos, así como de defender al cuerpo de ellos. Dichos órganos y tejidos incluyen a la médula ósea, el bazo, el timo, las amígdalas, las membranas mucosas, los ganglios linfáticos, el tejido linfoide y los vasos del sistema linfático. Existen referencias aproximadas de la composición de la subpoblación de los linfocitos presentes en sangre realizados mediante estudios citométricos en donde se aprecian diferencias que son únicamente dependientes del sexo de esta estirpe de ratas. Se ha observado que en las ratas macho existe un menor conteo de linfocitos de ayuda o “*T-helpers*” en inglés, y una mayor proporción de linfocitos reguladores “*T*”. A su vez, existen recuentos más altos de células $CD4^{+2}$ en hembras y de células $CD8^{+3}$ en machos. Los datos citométricos aproximados de leucocitos de ratas hembra y macho se aprecian en las Tablas 1 y 2 (Dzhalilova et al., 2020).

Tabla 1. Datos aproximados de composición de leucocitos presentes en ratas hembra de la estirpe Wistar (Kabat-Koperska et al., 2016)

Células blancas sanguíneas	4.50±1.09 g/L
Linfocitos	64.88%
Neutrófilos	24.88%
Monocitos	0.73%
Eosinófilos	0.22%
Basófilos	0.022%

² Tipo específico de linfocitos que encabezan la lucha del organismo del individuo contra infecciones

³ Tipo específico de linfocitos que pueden destruir células cancerosas y otros agentes patógenos invasores

Tabla 2. Datos aproximados de composición de leucocitos presentes en ratas macho de la estirpe Wistar (Yakubu y Afolavan, 2008)

Células blancas sanguíneas	8.82x10 ⁹ células/L
Linfocitos	55.18%
Neutrófilos	8.10%
Monocitos	23.30%
Eosinófilos	1.28%
Basófilos	0.34%

Una de las partes de mayor importancia en esta investigación es el sistema inmunológico de la mucosa intestinal. Este sistema es el componente inmune más grande del cuerpo. Se encuentra formado por la mucosa asociada con el tejido linfoide o *MALT* (*Mucosa-associated lymphoid tissue*, por sus siglas en inglés) donde se encuentran aproximadamente la mitad de toda la población de linfocitos. Las células de este tejido linfoide se encuentran dispersas a lo largo de los tejidos de la mucosa y están dentro de una estructura especial en donde se desarrollan las respuestas inmunitarias. Estas células generan un efecto de inmunidad en todos los demás folículos linfáticos debido a sus efectos de circulación. El tejido tipo *MALT* del sistema digestivo, se conforma principalmente por: a) El tejido linfoide asociado con el conducto salival (*DALT*) (*Duct-associated lymphoid tissue*, por sus siglas en inglés) y b) el tejido linfoide asociado con el intestino o *GALT* (*Gut-associated lymphoid tissue*, por sus siglas en inglés). Este último defiende a toda la región del intestino de infecciones o patologías. Una de las funciones principales de este tejido es producir y secretar inmunoglobulina A (IgA) a través de reacciones específicas de antígeno de superficies mucosas dependientes de linfocitos *Th2* (aunque también pueden ocurrir reacciones mediadas por células *T* citotóxicas⁴ y linfocitos *Th1*) (Elinav et al., 2013; Haley, 2003; Márquez et al., 2000; Ramiro-Puig et al., 2007; Ruiz-Iglesias et al., 2020).

El tejido *MALT* se puede dividir por su funcionalidad en sitios efectores y sitios inductivos. Los sitios inductivos contienen tejidos linfoides secundarios, en los

⁴ Tipo de linfocitos específicos que pueden destruir ciertas células, como células extrañas, cancerosas o células infectadas por algún virus. Estas también suelen ser llamadas células *T* citolíticas

cuales ocurre el cambio de clase de inmunoglobulinas IgA y la expansión clonal⁵ de células *B* en respuesta a la activación de las células *T* específicas de antígenos⁶. Cuando cambian las células *T* y *B* estas pueden migrar a los sitios efectores, en los cuales, la IgA secretora o S-IgA es secretada a través del epitelio de la mucosa. En las ratas Wistar la S-IgA también puede ingresar al intestino mediante el conducto biliar extra-hepático debido a que sus hepatocitos también producen componentes secretores. Los tipos de inmunoglobulinas presentes en diversas especies pueden ser comparados con fines prácticos como se muestra en la Tabla 3, observando la similitud entre ratas y humanos (Elinav et al., 2013; Haley, 2003; Márquez et al., 2000; Ramiro-Puig et al., 2007; Ruiz-Iglesias et al., 2020).

Tabla 3. Inmunoglobulinas presentes en diferentes especies (Haley, 2003)

Especies	IgG	IgM	IgE	IgA	IgD
Humano	IgG ₁ , IgG ₂ , IgG ₃ , IgG ₄	*	*	*	*
Rata	IgG ₁ , IgG _{2a} , IgG _{2b} , IgG _c , IgG ₃ , IgG ₄ .	*	*	*	*
Perro	IgG ₁ , IgG ₂				
Conejo	+				
Hámster	IgG ₁ , IgG ₂				
Primates	+	*	*	*	
Ratón	IgG ₁ , IgG _{2a} , IgG _{2b} .	*	*	*	
Cuyo	IgG ₁ , IgG ₂ .	*	*	*	

Donde * significa que se encuentra presente la inmunoglobulina indicada. + indica que no existen subtipos de IgG

Es importante resaltar que, aunque los sitios *MALT* se encuentren anatómicamente separados, están funcionalmente conectados en el sistema inmunológico común de las mucosas. Por tanto, la presentación de antígenos y la activación de células *B* en un lugar de la mucosa puede provocar la secreción de IgA en varios otros sitios de esta. En el intestino delgado se han descrito varios tipos de nódulos linfoides, como son las placas de Peyer⁷, los folículos linfoides

⁵ Aumento del número de células por mitosis

⁶ Sustancia proveniente del ambiente, como virus, bacterias, sustancias químicas, la cual provoca que el sistema inmune produzca anticuerpos en su intento de combatirla al reconocerla como sustancia extraña

⁷ Cúmulos de tejido linfático encontrados en la pared del intestino, con ligeras prominencias hacia el lumen intestinal

aislados y los criptoparches (agregados de células *T* y células dendríticas⁸). Por otro lado, en el intestino grueso existen los complejos linfoglandulares y las placas de Peyer, las cuales se distribuyen al azar a lo largo de la mucosa y submucosa del tracto gastro intestinal, especialmente, en el yeyuno. Cabe mencionar que, en las ratas Wistar, las placas de Peyer contienen de 6 a 12 centros germinales⁹ (Elinav et al., 2013; Haley, 2003; Márquez et al., 2000; Ramiro-Puig et al., 2007; Ruiz-Iglesias et al., 2020).

4.4. Microbiota intestinal presente en ratas de la estirpe Wistar

La microbiota intestinal de las ratas es similar a la del ser humano y es un conjunto de microorganismos que han colonizado el tracto intestinal. Se encuentra formada de bacterias, protozoarios, virus y hongos. Existen más de 1000 especies bacterianas cooperando con los procesos de nutrición y brindando asistencia en muchos procesos bioquímicos. Entre estos procesos se destaca el desarrollo inmunológico y diversas funciones metabólicas, así como la protección contra bacterias patógenas, siendo también estas poblaciones sensibles a los cambios de dieta y la salud en la que se encuentre el individuo (Hansen et al., 2012; Icaza- Chávez, 2013).

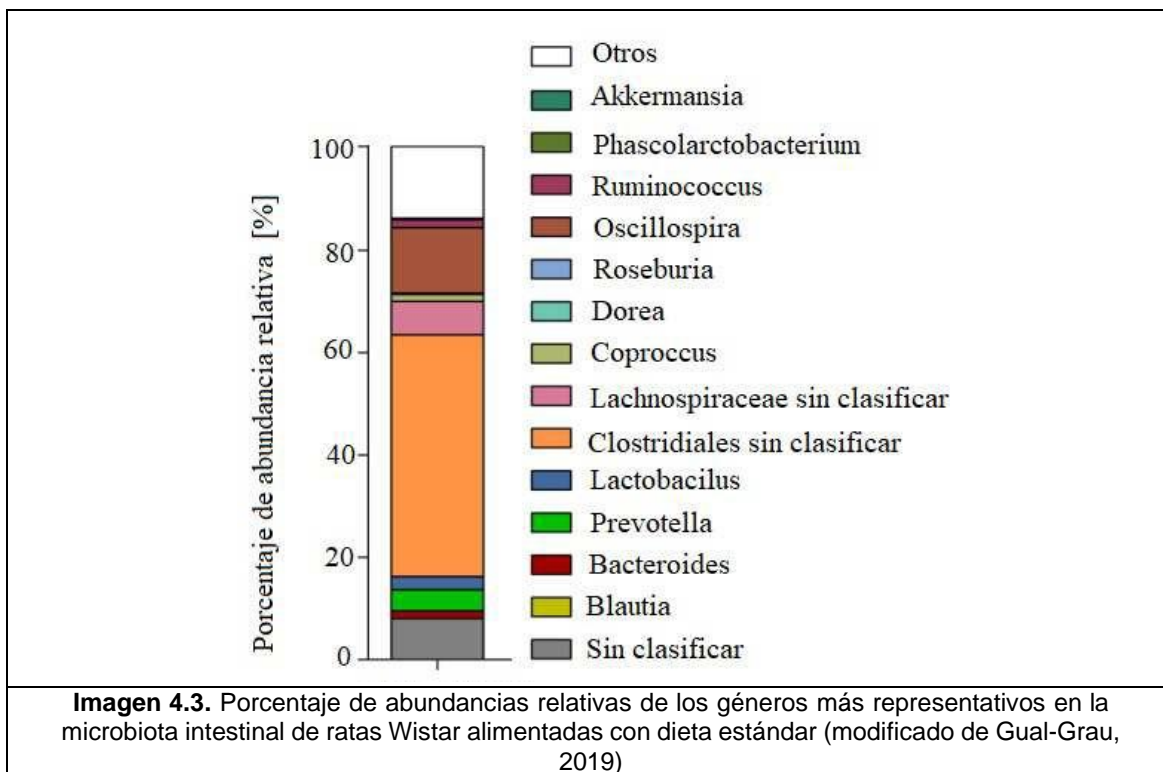
La microbiota juega un papel crítico en la regulación de adiposidad y obesidad. Asimismo, desempeña un papel fundamental en las enfermedades relacionadas como son la diabetes *mellitus* tipo 2 o la hipertensión (Thomas y Jobin, 2019). Gracias a las tecnologías actuales de secuenciación existen estudios sobre microbiota intestinal de ratas. Estas tecnologías mediante el uso del gen *16s*, altamente conservado en los microorganismos procariontes, dan por resultado datos cercanos a la realidad sobre las poblaciones bacterianas del tracto

⁸ Tipo específico de célula del sistema inmune encontrada en tejidos como la piel, es un tipo de fagocito y estimula las respuestas inmunitarias al presentar antígenos en su superficie para otras células del sistema inmune

⁹ Los centros germinales son una parte de la respuesta inmune humoral mediada por *células B*, actuando como fábricas centrales de inmunoglobulinas de alta afinidad que eficazmente reconozcan agentes contagiosos, así como para la producción de células *B* de memoria

gastrointestinal de las ratas Wistar. Estas investigaciones muestran el hecho de que la microbiota total es de una complejidad aún mayor. Algunas de las principales especies presentes en el intestino de las ratas Wistar son: “*Porphyromonas* spp., *Bacteroides acidif.*, *Coprococcus catus*, *Acetivibrio* spp., *Prevotella* spp., *Barnesiella* spp., *Tanarella* spp., *Prevotella* sp., *Candidatus Arthrom*, *Turcibacter* spp., *Alistipes* sp., *Acetobacter pasteu*, *Alistipes shahii*, *Allobaculum* sp., *Salmonella enteric*, *Eggerthella lenta*, *Sporanaerobacter* s., *Muscispirillum scha*, *Tyzzarella clostri* *Lachnoclostridium*, *Ruminococcus* spp., *Alkalibacter* spp. *Bifidobacterium th.*, *Ruminiclostridium*, *Eubacterium copros*, *Senegalimassilia a*, *Parabacteroides di*, *Kopriimonas* spp. *Romunococcus champ*, *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides* spp., *Laconifactor long*, *Methylobacterium k*, *Ruminococcus albus*, *Eggerthella* Spp. *Eubacterium* spp., *Lachonnostricium*, *Barnesiella viscer*, *Blautia hydrogenot*, *Corynebacterium di*, *Lactobacillus john*, *Alistipes putredin*, *Lactococcus garvie*, *Gleobacter* spp. *Roseburia intestin*, *Acinetobacter juni*, *Filifactor villosu*, *Porphyromonas* sp., *Ruminococcus* sp., *Enterohabdus muco*” (Khare et al., 2020).

Los géneros más representativos son: “*Blautia*, *Porphyromonas*, *Candidatus atrthom*, *Lachnospiraceae* *Gleobacter*, *Sporanaerobacter*, *Kopriimonas*, *Senegalimassilia*, *Coproccus*, *Bacillus*, *Turicibacter*, *Bifidobacterium*, *Cryocola*, *Rhodococcus*, *Acetobacter*, *Symbiobacterium*, *Phascolarctobacterium*, *Lactonifactor*, *Roseburia*, *Rothia*, *Moorella*, *Parabacteroides*, *Parasutterella*, *Tannerella*, *Enterorhabdus*, *Lactobacillus*, *Dethiobacter*, *Corynebacterium*, *Garciella*, *Gracilibacter*, *Mucispirillum*, *Methylobacterium*, *Acinetobacter*, *Alkalibacter*, *Akkermansia*, *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Olsenella*, *Dorea*, *Eggerthella*, *Allobaculum*, *Prevotella*, *Candidatus phytopl.*, *Salmonella*, *Faecalibacterium*, *Hohnsonella*, *Atopobium*, *Oscillospira*, *Thermoanaerobacter*, *Parasporobacterium*, *Barnesiella*, *Marvinbryantia*, *Tyzzarella*, *Desulfotomaculum*, *Anaerovorax*, *Acetibivrio*, *Oxobacter*”. Los porcentajes de abundancia relativa de los géneros más representativos se muestran en la Imagen 4.3 (Khare et al., 2020).



4.5 Dieta a partir del nacimiento

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda exclusivamente la lactancia materna durante los primeros meses de vida humana, ya que la leche materna es la forma en que los mamíferos reciben sus primeros nutrientes y componentes bioactivos necesarios indispensables, no solamente para sobrevivir, sino también para enfrentar sus primeros acercamientos con agentes infecciosos. Lo anterior se debe a que su sistema inmunológico no se encuentra completamente funcional ni desarrollado al momento de su nacimiento (García-López, 2011).

La leche materna tiene una composición dinámica adecuada para ser el primer alimento en distintas etapas del mamífero lactante, el pre-calostro, el calostro (que tiene una mayor concentración de inmunoglobulinas¹⁰), la leche de transición y la

¹⁰ Proteína plasmática sintetizada por los linfocitos B maduros y las células plasmáticas, como respuesta a la estimulación por un antígeno y que actúa como anticuerpo, para la defensa específica del organismo

leche madura. Algunos de los factores bioactivos más importantes de la leche materna son: Oligoglúcidos¹¹, hormonas, enzimas, inmunoglobulinas, lactoferrina, factores de crecimiento¹², agentes antiinflamatorios e incluso algunos microorganismos. Estos factores bioactivos transferidos por la madre son los necesarios para generar el correcto desarrollo de la mucosa intestinal, la microbiota y el sistema inmune del lactante (García-López, 2011; Torres-Castro et al., 2020).

En las ratas de la estirpe Wistar, la leche materna contiene diversos factores de crecimiento. Uno de ellos es el factor de crecimiento transformante- β 2 (*TGF- β 2*); está presente con mayor abundancia en el ser humano. Se encuentra asociado con la producción de inmunoglobulinas de tipo IgA, así como la correcta modulación y participación de células T reguladoras. Otro de los factores de crecimiento es el denominado como factor de crecimiento epidérmico (*EGF*, por sus siglas en inglés). Este último tiene un importante papel de prevención de la enterocolitis necrotizante, así como en la regulación de citocinas proinflamatorias¹³. Este factor junto con el factor de crecimiento de fibroblastos 21 (*TGF-21*) juegan un papel importante en el mantenimiento de la barrera intestinal. El factor *TGF-21* ha sido descrito recientemente en la leche materna humana y es el encargado de la termogénesis del tejido adiposo el cual es un proceso clave en la adaptación del mamífero al entorno extrauterino, así como su reciente hallazgo en cuanto a la actividad digestiva y endócrina de los ratones recién nacidos (Torres-Castro et al., 2020).

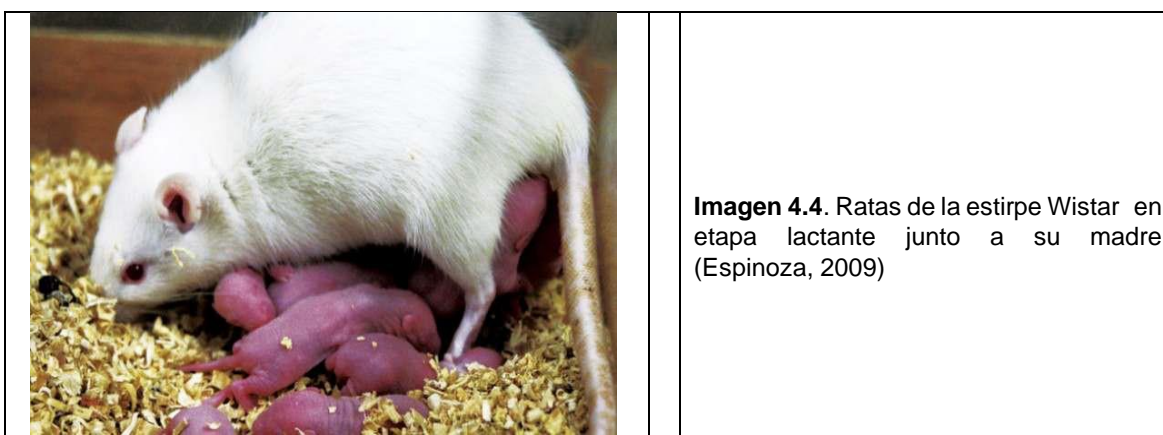
Estos factores cuando son suplementados con la dieta y leche materna en la etapa lactante de las ratas tienen como consecuencia la promoción del desarrollo de inmunoglobulinas plasmáticas de tipo *Th2*. Estas inmunoglobulinas son

¹¹ Ha habido una tendencia a llamar a algunos hidratos de carbono sacáridos aunque en realidad deberían llamarse glúcidos, de glucosa. En esta investigación se les llama glúcidos

¹² Los factores de crecimiento son señales bioquímicas capaces de modificar las respuestas de las células del organismo. Están involucrados en el control del crecimiento y diferenciación celular

¹³ Las citocinas son pequeñas proteínas que son cruciales para controlar el crecimiento y la actividad de otras células del sistema inmunitario y las células sanguíneas. Las citocinas proinflamatorias participan en algunas señalizaciones bioquímicas para que la defensa contra infecciones funcione de manera más eficaz

predominantes en las primeras etapas de la vida, las cuales, además de mostrar ligeras modificaciones en la conformación de linfocitos esplénicos¹⁴ y su capacidad de secretar citocinas, no afectan la respuesta proliferativa. Debido a que los cambios en la dieta provocan un aumento significativo de linfocitos, para el caso de ratas prematuras o en etapa lactante (Imagen 4.4), es posible suplementar la leche materna con una dieta especial para las primeras 2 semanas de vida (Torres-Castro et al., 2018).



Del mismo modo, la dieta suplementada con estos factores de crecimiento soluciona el desequilibrio entre células *Th1* y *Th2*, problema que normalmente se encuentra presente en las ratas prematuras (Torres-Castro et al., 2018). Las ratas prematuras, así como una gran cantidad de mamíferos, incluidos los humanos, pueden tener como causa de muerte la enterocolitis necrotizante, la cual se da por una mala permeabilidad y alimentación enteral. Esta enfermedad provoca, en un inicio, una inflamación que tiene como consecuencia posterior hemorragias y finalmente la necrosis del tejido. Lo anterior es causado por una deficiente colonización bacteriana, hipoxia intestinal y una mala formación de la barrera epitelial. Debido a lo anterior, se considera que la leche materna es uno de los principales alimentos vitales para el correcto desarrollo del intestino y del funcionamiento adecuado del sistema inmune intestinal, especialmente para individuos prematuros (Mihatsch et al., 2011).

¹⁴ Del bazo o relacionado con él (por su nombre en inglés)

CAPÍTULO 5

IMPORTANCIA DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN EL DESARROLLO FISIOLÓGICO DE LOS INDIVIDUOS

5.1. Organismos libres de gérmenes sin microbiota intestinal (*Germ-Free* en inglés)

Un organismo libre de gérmenes es aquel que nació por cesárea bajo condiciones estériles (aprovechando la aparente esterilidad del útero) y que posterior a su nacimiento, fue mantenido en un área estéril y nutrido mediante alimentos esterilizados. En otras palabras, es un organismo que carece de microorganismos, virus, parásitos y cualquier otra forma de vida que no sea la del propio individuo (King y Russell, 2006).

Cuando los roedores libres de gérmenes son alimentados con dietas con un alto contenido de grasas y carbohidratos, ganan un menor porcentaje de masa corporal. Además, en comparación con roedores convencionales se encuentran libres de la resistencia a la insulina. La microbiota intestinal de los roedores convencionales promueven el almacenamiento de triglicéridos circulantes en los adipocitos, mientras que los ratones libres de gérmenes tienen un aumento en la tasa de oxidación de ácidos grasos de hígado y de músculo (Li, 2014).

La microbiota intestinal es una pieza clave en el correcto desarrollo del tracto gastrointestinal, así como en la inmunomodulación de su mucosa junto con todos los beneficios previamente mencionados. Algunos estudios intentan encontrar la relación entre los organismos libres de gérmenes y la actividad del sistema inmune. Lo anterior sigue siendo aún un tema abierto a debate. No se sabe si es

que repercute en todo el sistema inmune o solamente en la región asociada con el intestino (Vannucci et al., 2007).

Se sospecha que las ratas libres de gérmenes pueden tener algunas diferencias fisiológicas con los individuos normales. Por ejemplo, hay descripciones de ratas libres de gérmenes con resistencia a la degeneración del miocardio¹⁵ que sí presentan sus análogas con presencia de gérmenes. En específico, las ratas Wistar libres de gérmenes son resistentes a la poliarteritis nodosa¹⁶. No obstante, existen más problemas que ventajas en este tipo de organismos; un ejemplo de ello son las hemorragias espontáneas ocurridas por la hipovitaminosis de vitamina K. Estas hemorragias ocurren por la deficiencia en la producción de vitamina K y su baja asimilación debido a la ausencia de microbiota intestinal (King y Russell, 2006).

En ratas libres de gérmenes el ciego (parte del sistema digestivo) puede tener un tamaño 5 veces mayor al que se considera normal; debido a que la presión osmótica es mucho mayor al no contar con microorganismos y a que tiene una baja cantidad de iones en el agua contenida en el intestino. Asimismo, la pared intestinal es mucho más delgada que la común, lo cual provoca comúnmente que las ratas adultas tengan una rotación en el intestino, generando una torsión en los vasos sanguíneos y en el mesenterio, provocando una obstrucción intestinal (King y Russell, 2006).

En ratas macho libres de gérmenes se ha reportado una alta prevalencia de cálculos renales (50% contra solamente 2% en hembras libres de gérmenes), atribuidos por el aumento de calcio, citratos y pH en la orina. Sin embargo, estudios realizados con estas ratas demostraron que al dejar de ser libres de

¹⁵ Tejido muscular del corazón que se encarga de bombear sangre por todo el sistema circulatorio mediante su contracción y relajación

¹⁶ Vasculitis necrosante de arterias de bajo y mediano calibre, las cuales producen eventualmente fallas multiorgánicas

gérmenes y adquirir artificialmente una microbiota intestinal, se eliminaba el aumento de incidencia de formación de cálculos renales (King y Russell, 2006).

Adicionalmente, las ratas libres de gérmenes presentan un corazón más pequeño, un bajo rendimiento cardíaco y un bajo consumo de oxígeno. En cuanto al desarrollo del sistema inmunológico, las ratas y los ratones libres de gérmenes presentan un tamaño reducido de las placas de Peyer y de ganglios linfáticos mesentéricos, así como también de cantidades muy reducidas de inmunoglobulinas IgA e IgM. Esto puede ser ocasionado debido a que la microbiota intestinal funciona como una fuente de señales reguladoras del sistema inmunológico y al no existir dichas señales, el sistema no se desarrolla de modo normal manteniéndose subdesarrollado. Existen poliglúcidos bacterianos como los de *Bacteroides fragilis*, que dirigen la maduración celular y física del sistema inmunológico, como la corrección de deficiencias entre *Th1* y *Th2* e incluso la formación de tejido linfoide. Los microorganismos intestinales también afectan el desarrollo de células *T* de la mucosa intestinal; así como de células mieloides y su activación en mamíferos recién nacidos, por lo que todos estos beneficios se traducen como defectos en las ratas libres de gérmenes (Li, 2014).

Las ratas Wistar libres de gérmenes se han convertido en un modelo animal muy utilizado para el estudio de distintos tipos de cáncer como el de próstata y colorrectal. Esto es debido, en parte, a que su sistema inmune tiene una respuesta más activa que las ratas Wistar que poseen una microbiota intestinal, con hechos bastante particulares. Por ejemplo, las ratas libres de gérmenes no pueden desarrollar cáncer de oído al ser inducida la carcinogénesis, además presentan la aparición de cáncer y tumores de manera espontánea en varios otros sitios del organismo (Imagen 5.1). Los datos de mayor relevancia en estos experimentos han demostrado que el sistema inmune actúa de manera distinta ante las mismas enfermedades en ratas Wistar libres de gérmenes que en ratas convencionales. Esto ha llevado a que el sistema inmune de las ratas libres de gérmenes se describa cómo un sistema inmune más “ingenuo” y mucho menos capacitado para

su correcto funcionamiento. Esta evidencia remarca la importancia de la exposición a la multitud de microorganismos presentes en los diversos ambientes. De igual manera, Vannucci et al. (2007) sugieren el posible uso de prebióticos y probióticos específicos para regular la inmunomodulación ante enfermedades de manera específica, volviendo más eficiente el funcionamiento del sistema inmune.



Imagen 5.1. Tumor espontáneo en la próstata de una rata macho libre de gérmenes de la estirpe Wistar (Carter y Foster, 2006)

En el contexto de la microbiota intestinal, también se abordan temas sobre la farmacocinética en el organismo, comparando ratas Wistar libres de gérmenes, con ratas diabéticas y con ratas con una microbiota convencional. Se encontraron no solamente diferencias en la desintoxicación y absorción de fármacos, sino en distintos metabolitos resultantes de dichos procesos. Por lo tanto, algunos de estos metabolitos son generados por la microbiota intestinal, confirmando de esta manera su participación en dichos procesos. Sin embargo, estos estudios fueron realizados con fármacos específicos (magniferina, daidzeína, estreptomina) por lo que no resulta conveniente generalizarlos ya que habría que realizar estudios con varios tipos de ellos (Liu et al., 2012).

De una manera similar, existen estudios como el de Cinova et al. (2011), quienes buscaron asociar a la microbiota intestinal con enfermedades relacionadas con el consumo de alimentos. Estos autores observaron cambios producidos en el tejido intestinal debido a la enfermedad celiaca. Estos cambios se apreciaron en mayor grado en ratas Wistar libres de gérmenes además se potencializó el efecto

adverso en ratas que tenía microorganismos patógenos colonizando su tracto gastrointestinal.

5.2. Desarrollo y funcionamiento del sistema inmune en conjunto con la microbiota intestinal

El sistema inmune de las ratas de la estirpe Wistar, así como del resto de los mamíferos, no se encuentra completamente desarrollado al nacer. Es por ello, que en los primeros meses del nacimiento los individuos son más susceptibles a sufrir de infecciones. Con el paso del tiempo, su sistema inmune madura y se adapta al ambiente que lo rodea. Adicionalmente, la exposición temprana a los microorganismos de la microbiota puede evitar problemas relacionados al funcionamiento del sistema inmune y su regulación como las enfermedades inflamatorias intestinales o las enfermedades autoinmunes. Esta falta de desarrollo en los recién nacidos tiene un motivo evolutivo, por ejemplo, la producción sesgada de citocinas proinflamatorias, que ayuda a evitar que el individuo tenga reacciones adversas contra su madre en el periodo gestante. La capa epitelial del tracto gastrointestinal en los mamíferos tampoco se encuentra desarrollada en el nacimiento, por ello presenta una alta permeabilidad y un bajo desarrollo en la secreción de la barrera química de las mucosas (proteasas y péptidos antimicrobianos) (Martin et al., 2010).

Los mamíferos recién nacidos tienen algunas células del sistema inmune con actividad disminuida como linfocitos denominados *natural killers* (asesinos naturales), neutrófilos y eosinófilos. Estas células del sistema inmune se encuentran en una pequeña proporción en comparación con mamíferos adultos, también la actividad de las células presentadoras de antígenos es menor, así como la producción de citocinas. La función de los linfocitos B tiene grandes diferencias entre individuos jóvenes y adultos pues no se encuentran maduras a temprana edad. Las inmunoglobulinas tienen niveles muy bajos en la circulación en la sangre y en el sistema linfático de un recién nacido, excepto las

inmunoglobulinas del tipo IgG (que son de origen materno), las del tipo IgA y las del tipo IgM las cuales pasan de manera indetectable (Martin et al., 2010).

Estos niveles de inmunoglobulinas aumentan rápidamente con el paso del tiempo conforme existen estímulos de antígenos, con excepción de las inmunoglobulinas tipo IgE las cuales, son limitadas a los niveles de Interleucina IL-4 producidas por las células T (Martin et al., 2010).

Existen evidencias claras de la maduración y desarrollo del sistema inmune provocados por la exposición a agentes microbianos, virus, patógenos y medio ambiente. Devalapalli et al. (2006) mencionan que en ratas Wistar y Sprague Dawley la exposición al ambiente genera mayores concentraciones de inmunoglobulinas en estudios relacionados con la “hipótesis de la higiene”, la cual sugiere que los individuos que en edad temprana no reciben una adecuada exposición al medio ambiente o la reciben con extrema higiene no tienen un adecuado desarrollo de su sistema inmune, ya que este se “entrena mal” y, por lo tanto, se impide el correcto desarrollo de los mecanismos inmunorreguladores.

Esta falta de desarrollo comúnmente deriva en respuestas proinflamatorias y efectos adversos de manera permanente. En el estudio de Devalapalli et al. (2006) se emplearon ratas de estirpe Wistar y se compararon los niveles de inmunoglobulinas IgM, IgG e IgE, de ratas de laboratorio contra ratas de vida silvestre, intentando realizar la comparación entre ratas salvajes de masas similares. Los investigadores hallaron que en las ratas salvajes de 125 gramos existe una mayor cantidad de las 3 inmunoglobulinas mencionadas en comparación con las ratas de laboratorio con una masa superior a los 250 g. En promedio, las poblaciones “higiénicas” tienen una concentración de inmunoglobulinas menores que las poblaciones “antihigiénicas”, como se muestra en la Imagen 5.2 (Devalapalli et al., 2006). Aunque existe una diferencia de linaje entre las ratas de laboratorio y las de vida silvestre (así como una clara diferencia genética), varios tipos de roedores mostraron diferencias similares, siendo la variable más importante la exposición al medio. De la misma forma se estudiaron

las concentraciones de los subtipos de inmunoglobulinas, los resultados mostraron que las concentraciones de IgG e IgE fueron mayores al estar en contacto con el ambiente (como se muestra en la Imagen 5.3).

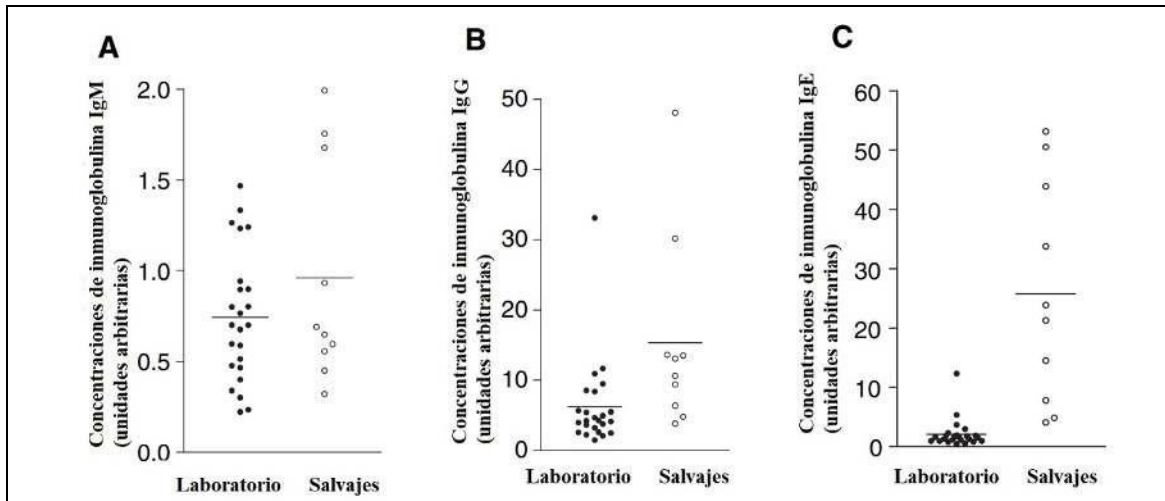


Imagen 5.2. Comparaciones de las concentraciones de inmunoglobulinas IgM, IgG e IgE en suero de ratas de la estirpe Wistar, de laboratorio versus ratas de otra estirpe (modificado de Devalapalli et al., 2006)

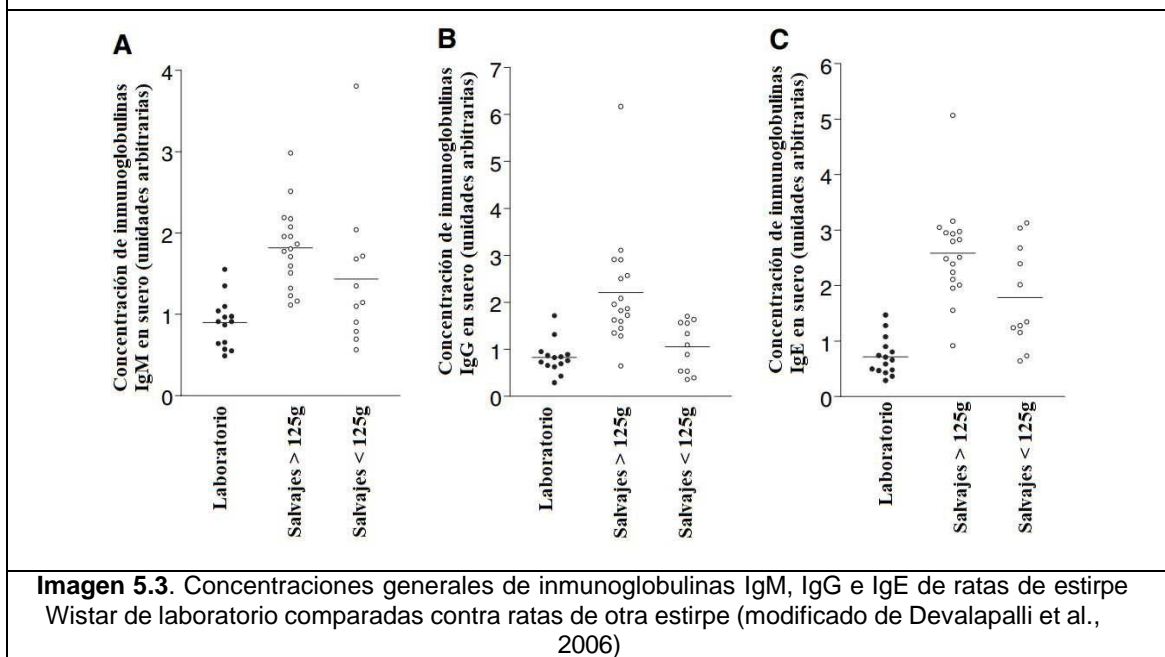


Imagen 5.3. Concentraciones generales de inmunoglobulinas IgM, IgG e IgE de ratas de estirpe Wistar de laboratorio comparadas contra ratas de otra estirpe (modificado de Devalapalli et al., 2006)

Estas inmunoglobulinas en altas concentraciones en poblaciones higiénicas comúnmente causan respuestas autoinmunes y alergias, pero en las poblaciones

antihigiénicas se cree que representan una respuesta protectora constante y adecuada al medio, ya que los objetivos de las inmunoglobulinas en poblaciones higiénicas son totalmente diferentes a los de poblaciones antihigiénicas. Estos hallazgos predicen que los animales excesivamente higiénicos exhiben simultáneamente una propensión al aumento de *Th1* y *Th2* (las cuales también se encuentran relacionadas con respuestas autoinmunes y alergias respectivamente). Lo anterior provoca en individuos higiénicos una vigilancia inmunológica hiperreactiva y en ocasiones con una afinidad a los tejidos propios del individuo (Devalapalli et al., 2006).

En relación con la edad, se ha observado que las ratas y ratones salvajes de edad similar a la vejez humana presentan una mayor cantidad de inmunoglobulinas que las ratas jóvenes de laboratorio, lo cual sugiere que estas estimulaciones tempranas del sistema inmune generan un correcto desarrollo con efectos prácticamente permanentes, lo que corrobora parcialmente la teoría de la higiene (Devalapalli et al., 2006).

Algunos otros factores mencionados en esta teoría son que entre individuos de entornos industrializados (como grandes ciudades) hay un menor ejercicio físico, mayor consumo de alimentos industrializados y niveles superiores de estrés, siendo algunos de ellos factores aplicables a las ratas de laboratorio en comparación con las ratas de vida silvestre salvajes (Devalapalli et al., 2006).

Durante el primer año de vida (equivalentes a 13.2 días en ratas según Sengupta, 2013), se observa que la rigidez del epitelio intestinal y de toda la red celular de inmunoregulación son sistemas frágiles. La homeostasis inmunológica y el desarrollo adecuado del sistema gastrointestinal, en conjunto con el sistema inmunológico asociado con este, ocurren durante este primer año de vida y dependen de una microbiota intestinal equilibrada, de tiempos de inoculación adecuados y de la exposición a antígenos bacterianos. En resumen el primer año

de vida parece ser un periodo clave de entrenamiento y programación del sistema inmune (Martin et al., 2010).

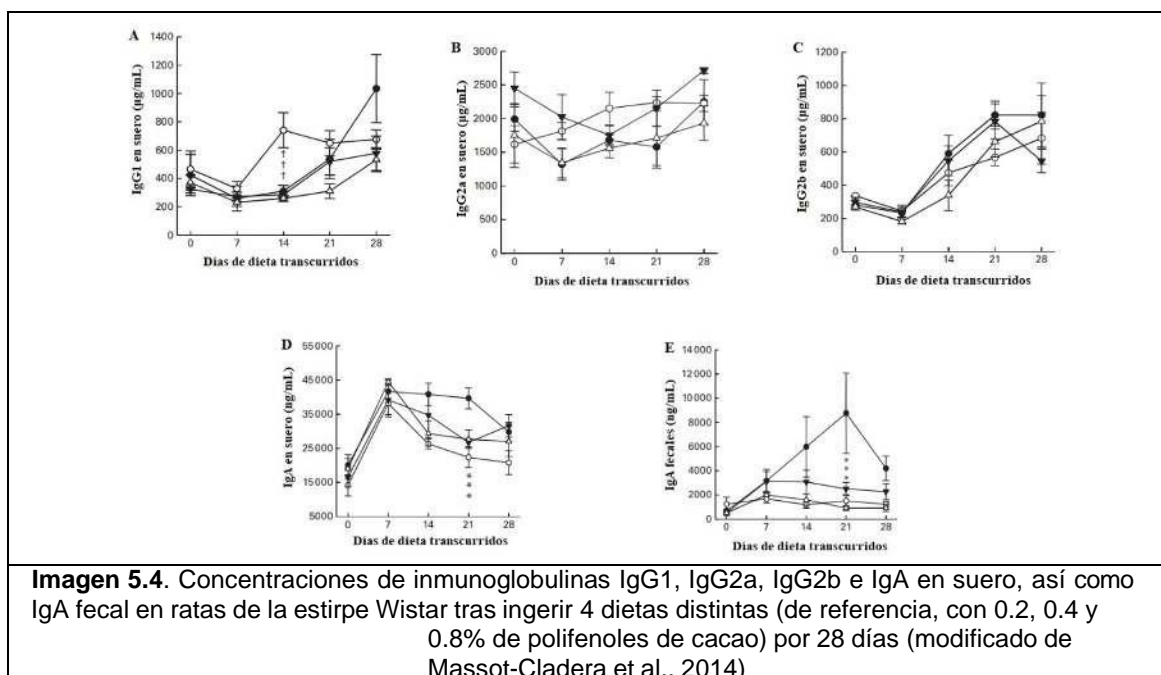
El sistema inmune continúa cooperando y funcionando junto con la microbiota intestinal después de su maduración. En ratas de estirpe Wistar existen evidencias de que el consumo de probióticos como son los géneros *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* modulan el sistema inmunológico mediante una respuesta antiinflamatoria. Esto sucede en modelos animales modificados genéticamente o inducidos por medio de factores externos para que produzcan procesos inflamatorios en su cuerpo. Las ratas Wistar sanas que reciben dichos probióticos, no muestran un cambio significativo en su producción de citocinas (Salazar et al., 2014) Lo anterior, puede ser ocasionado por dos situaciones. La primera es el hecho de que el sistema sano no presenta ningún proceso inflamatorio y se puede considerar como un sistema autorregulado. La segunda es que las bacterias utilizadas (Bifidobacterias) son productoras de exopoliglúcidos (EPG) los cuales “enmascaran” moléculas inmunorreactivas de la superficie bacteriana y escapan del control del sistema inmunológico.

Se ha observado que las bifidobacterias no productoras de EPG o que producen EPG distintos presentan respuestas inmunes diferentes. Estas respuestas inmunes generadas en el sistema son detectadas por las células *B*. El estudio realizado por Salazar et al. (2014), concluye que *Bifidobacterium animalis subsp.* productor de EPG puede suprimir la citocina proinflamatoria IL-6 promoviendo la síntesis reguladora de citocina *TGF-β*. Estudios futuros podrían probar cómo un tratamiento antiinflamatorio con el uso de *Bifidobacterium animalis subsp* ya sea en un tratamiento inicial o bien en una inflamación situada en umbrales bajos (como los presentados en modelos obesos) (Salazar et al., 2014).

La cooperación del sistema gastrointestinal junto con el sistema inmune se da en todos los niveles, dependiente de la nutrición diaria. Massot-Cladera et al. (2014) mencionan que alimentos como el chocolate, al estar presente en la dieta regular

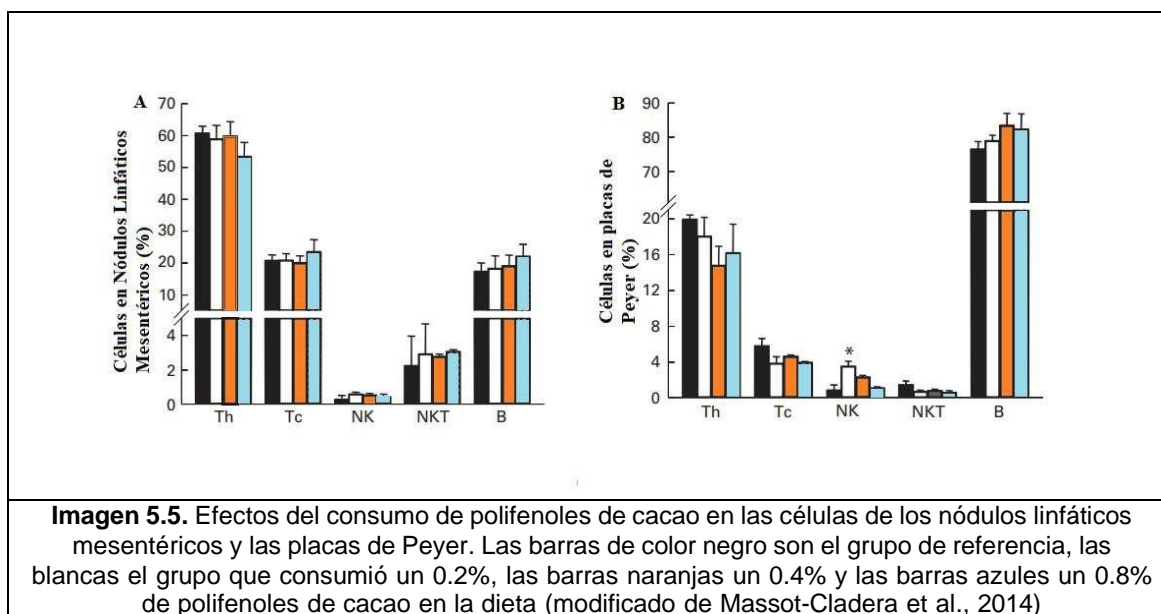
de muchas personas, debería tener algún impacto en el sistema inmune. En su estudio de 2014 se presentan las repercusiones del consumo de polifenoles de cacao (en concentraciones de 0, 0.2, 0.4, y 0.8%) en ratas hembra de la estirpe Wistar. Las dietas ricas en polifenoles fueron elaboradas con cacao en las cantidades necesarias para suministrar las dosis de polifenoles estudiadas. Además, estas dietas eran isoenergéticas y tenían la misma proporción de macronutrientes (carbohidratos, proteínas y lípidos) y fibra insoluble que la dieta estándar, demostrando que su consumo repercutió benéficamente su sistema inmune gracias a los polifenoles contenidos en el alimento.

Al cuantificar las concentraciones en suero de inmunoglobulinas IgA, IgG1, IgG2a e IgG2b, se observaron tendencias de aumento en las concentraciones a lo largo de los días, llegando a un límite superior. Sin embargo, no se consideraron representativas para algunos tipos de inmunoglobulinas como las IgG2a, como se aprecia en la Imagen 5.4 (Massot-Cladera et al., 2014).



Del mismo modo, se estudiaron concentraciones de células del sistema inmune (linfocitos *B*, *Th*, *Tc*, *NK*, *NKT*), en los nódulos linfáticos mesentéricos y en las placas de Peyer, sin observar cambios representativos en los nódulos linfáticos, solamente se observó una reducción de la proporción de linfocitos *Th*, un ligero aumento de células *B* y en las placas de Peyer un alza de linfocitos *NK* como se muestra en la imagen 5.5. La microbiota intestinal de las ratas Wistar de referencia se caracterizó por mantener un patrón similar entre el inicio y el final de la experimentación,

aumentando únicamente la proporción de *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*. Las ratas cuya dieta fue intervenida con los polifenoles de cacao, tras 4 semanas, tuvieron una disminución de las poblaciones de *Lactobacillus*, *Staphylococcus*. No obstante, inhibieron el aumento en *Streptococcus* (Massot-Cladera et al., 2014).



A pesar de que los efectos reguladores de los polifenoles de cacao sobre algunas partes fundamentales del sistema inmunológico (producción de células NK en las placas de Peyer) fueron notorios, existen otros efectos benéficos que se han reportado por el consumo de cacao y chocolate que no se encuentran en el estudio de Massot-Cladera et al. (2014), por lo tanto, se cree que existen otros compuestos químicos que favorecen estos cambios en conjunto con los polifenoles (Massot-Cladera et al., 2014). Los efectos sobre la microbiota intestinal fueron opuestos a los reportados por tratamientos *in-vitro* con polifenoles sobre las proporciones de Bifidobacterias. El estudio de Massot-Cladera et al. (2014) menciona que existen resultados que discrepan de resultados de experimentos previos con resultados de otras estirpes de ratas. Las escasas concordancias entre los resultados pueden deberse a que las modulaciones inmunológicas y de

la microbiota intestinal pueden ser aún más complejas que los estudios *in vitro*. Además, las modulaciones inmunológicas y de la microbiota intestinal pueden funcionar de manera distinta cuando se trata de un extracto o de toda la matriz alimentaria de las dietas. Por lo tanto, en estudios complementarios se podrían estudiar los efectos presentados de manera conjunta (Massot-Cladera et al., 2014).

Wang et al (2017) estudiaron los efectos sobre el sistema inmune y la microbiota intestinal al consumir el extracto de *Echinacea purpurea*. Esta planta ha sido utilizada como medicina natural por nativos americanos y europeos por múltiples generaciones por sus distintas actividades biológicas. Entre ellas destacan el actuar como antiinflamatorio, antioxidante, poseer propiedades antibacterianas y de inmunomodulación. Wang et al (2017) mencionan que *Echinacea purpurea* es utilizada como un complemento alimenticio en enfermedades infecciosas para niños, ancianos y animales. No obstante, la medicina natural no detalla los efectos inmunomoduladores ni las repercusiones sobre la microbiota intestinal. Los compuestos presentes en *Echinacea purpurea* a los cuales se les atribuyen los efectos inmunomoduladores son los siguientes: Ácido córico, ácido caféico, diversos polifenoles, glicoproteínas y algunos poliglúcidos obtenidos a partir de sus raíces. Wang et al. (2017) compararon el consumo de *Echinacea purpurea* contra un fármaco llamado "Pidotimod®", el cual, está indicado para problemas de inmunodeficiencia, alteraciones en madurez de linfocitos T, así como en necesidades de inmunoregulación. La dosis empleada de extracto de *Echinacea purpurea* fue de 600 mg/kg contra 150 mg/kg de Pidotimod® en ratas Wistar. Se realizaron pruebas con un grupo control joven y uno de edad más avanzada (14 semanas). Ambos grupos ingerían una dieta normal. Lo anterior con el fin de comparar en ambas edades los efectos debidos al uso del fármaco contra los efectos del uso de la planta medicinal. Después de un consumo durante 6 semanas se compararon los resultados de citocinas inmunoreguladoras, inmunoglobulinas, el metaboloma sistémico y la microbiota intestinal de ratas inmaduras. El estudio concluyó que la *Echinacea purpurea* y el fármaco

Pidotimod® tuvieron una gran similitud en efectos inmunoreguladores. Esto se apreció al observar que ambos, planta y fármaco, reducen la producción de IL-6, IgA, IgG y NK en el bazo, sugiriendo que la hierba tuvo un efecto positivo sobre el sistema inmune. Además, *Echinacea purpurea* aumentó significativamente IL-2 y Th1. Por lo tanto, se observó que la regulación de esta hierba sobre Th1 y Th2 es totalmente distinta al fármaco. Sin embargo, con los efectos observados se puede concluir que esta hierba promueve la inmunidad y la reducción de la inflamación celular (Wang et al., 2017). En relación con la microbiota intestinal, los grupos *Firmicutes* y *Proteobacteria* aumentaron significativamente, tanto con el fármaco como con *Echinacea purpurea*, en comparación con un grupo control. A nivel de género, existió una disminución de *Bacillus*, *Lactobacillus* (productoras de lactato), al mismo tiempo que aumentaron *Bifidobacterium* (bacterias productoras de ácidos grasos de cadena corta) como se muestra en la Imagen 5.6 (Wang et al., 2017). Los cambios que provoca el consumo de *E. purpurea* en la microbiota intestinal de las ratas no fueron del todo favorables, ya que disminuyeron proporciones de géneros considerados como benéfico, por ejemplo el género *Lactobacillus*. Sin embargo, se observaron efectos similares entre *E. purpurea* y el fármaco Pidotimod®. Por otro lado, también se observaron semejanzas en la madurez inmune con el control de 14 semanas. Por tanto, se sugiere que *Echinacea purpurea* podría conducir del estado juvenil al estado maduro del sistema inmune. En un futuro, los perfiles metabólicos, así como un estudio más detallado de la microbiota intestinal, podrían conducir al descubrimiento del consumo de complementos alimenticios con el fin de producir la correcta maduración de este sistema (Wang et al., 2017).

5.3. Interacciones entre la microbiota intestinal y las regiones inmunes de órganos externos al intestino

Los estudios actuales en función de la microbiota intestinal se encuentran orientados en estudiar las causas y los efectos de sus cambios sobre los individuos.

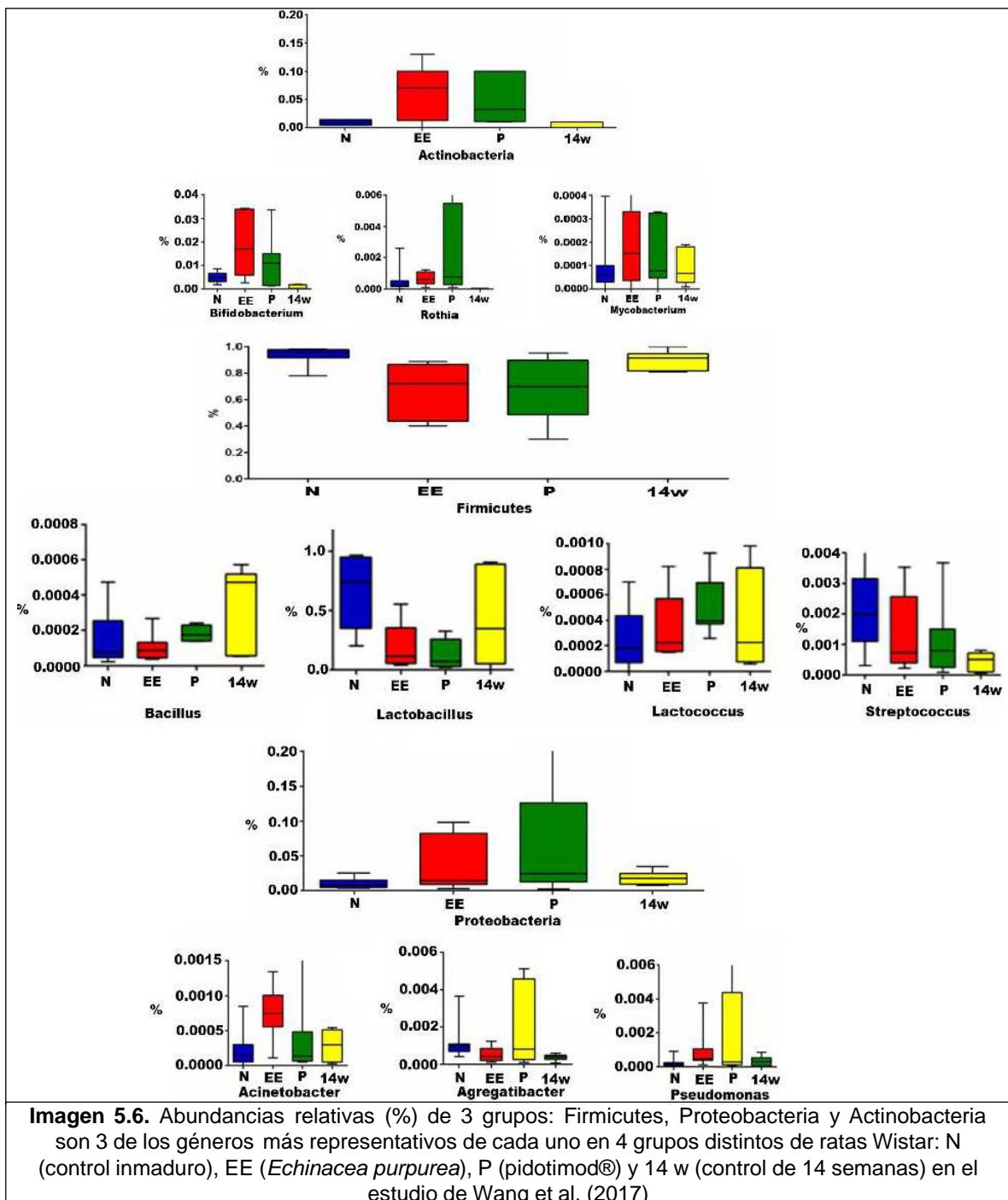


Imagen 5.6. Abundancias relativas (%) de 3 grupos: Firmicutes, Proteobacteria y Actinobacteria son 3 de los géneros más representativos de cada uno en 4 grupos distintos de ratas Wistar: N (control inmaduro), EE (*Echinacea purpurea*), P (pidotimod®) y 14 w (control de 14 semanas) en el estudio de Wang et al. (2017)

Varios de ellos se encuentran en función del sistema inmune, y en su gran mayoría en función del sistema inmune asociado con el intestino. Sin embargo, existe un creciente interés en las interacciones tanto con la microbiota

extraintestinal como con los órganos extraintestinales del sistema inmunológico, lo que abre otra pequeña rama de investigación. La piel es, al igual que el intestino, un sistema de mucho dinamismo que alberga una gran cantidad de microorganismos que interactúan con ella. Estudios en humanos muestran que la microbiota de la piel presenta una inmunidad protectora con su huésped, consiguiendo un equilibrio con las células *T* dependientes de *IL-1*, teniendo comunicación entre *Staphylococcus epidermidis* con las células *T CD8+* las cuales, pueden ayudar a promover respuestas antimicrobianas ya sea restringidas o moduladas por el complejo de histocompatibilidad mayor o *MHC*¹⁷. Este complejo se encuentra altamente conservado en todos los organismos vertebrados a través de la evolución ya que coopera contra lesiones cutáneas y reacciones inflamatorias. Esta microbiota de la misma forma que la intestinal, se obtiene del contacto con la madre desde el momento de nacer, o bien con los contactos posteriores con más individuos de la especie. Es probable que en el resto de los mamíferos, como las ratas de la estirpe Wistar, existan mecanismos similares de obtención de la microbiota de la piel (Zheng *et al.*, 2020). En el caso del pulmón existe evidencia suficiente para mencionar lo denominado como “eje intestino-pulmón” el cual muestra que ciertas alteraciones en la microbiota intestinal deriva en metabolitos de señalización que afectan a la inmunidad pulmonar. En varios roedores existe evidencia de que los ácidos grasos de cadena corta derivados del intestino promueven la hematopoyesis de la médula ósea y las células mieloides que posteriormente migran al pulmón dando paso a parte del sistema inmune pulmonar confiriéndole una protección sobre las inflamaciones de las vías respiratorias. Del mismo modo, un compuesto llamado desaminotirosina (metabolito producido por *Clostridium orbiscindens*) ejerce efectos distales sobre el pulmón. Este compuesto ayuda en la protección contra influenza a través de la modulación del interferón tipo 1¹⁸. Existen también evidencias de que, en los roedores, al igual que con la microbiota intestinal la correcta exposición a agentes

¹⁷ Conjunto de marcadores moleculares ubicados en la superficie celular que le confiere a los individuos identidad tisular propia, siendo un aspecto básico de reconocimiento del sistema inmune

¹⁸ Subgrupo de proteínas que ayudan a regular la actividad del sistema inmunológico, los cuales se unen a receptores específicos, este subgrupo de proteínas es común en todos los mamíferos y varios grupos de vertebrados

microbianos y a estímulos externos en el pulmón en la primer etapa de la vida es crucial para evitar enfermedades respiratorias y futuros problemas del tejido pulmonar (Zheng et al., 2020).

El hígado, conectado directamente con el tracto gastrointestinal, se encuentra constantemente expuesto a productos bacterianos de la microbiota intestinal, teniendo una conexión llamada por muchos investigadores el “eje intestino-hígado”. Los patrones moleculares asociados con las bacterias intestinales influyen directamente en la maduración de las células hepáticas. En concreto, las células de Kupffer¹⁹ en el hígado pueden verse beneficiadas por la microbiota intestinal. Un ejemplo de ello es que las células hepáticas productoras de fibrosis en el hígado pueden ser estimuladas por lipopoliglúcidos bacterianos y resultar en una señalización de regulación. Lo anterior es uno de varios ejemplos de conexiones y de una constante comunicación entre el sistema inmune del hígado y el intestino (Zheng et al., 2020).

Sobre el resto del cuerpo, existe un reciente interés sobre la utilización de secuenciaciones con tecnologías superiores para caracterizar posibles poblaciones de baja cantidad de biomasa, es decir, buscar microorganismos en órganos aparentemente estériles, como son los pulmones, los órganos reproductivos, los conductos biliares, etc. Sin embargo, en la actualidad, se requiere hacer estos estudios con extrema precaución, ya que de momento existe una alta tasa de falsos positivos dados por contaminación en el sistema y, por ende, requieren de mayor precisión en la técnica y en la experimentación (Zheng et al., 2020).

5.4. Eje microbiota-intestino-cerebro

El sistema gastrointestinal al ser el principal contacto con el ambiente circundante y el interior de un individuo, presenta una serie de estímulos sobre el sistema

¹⁹ Macrófagos específicos del hígado

nervioso central, el cerebro e incluso sobre el comportamiento general del individuo. Todo ello es influenciado por el metabolismo y por la actividad bacteriana de la microbiota intestinal. El eje intestino-cerebro recientemente denominado como “eje-microbiota-intestino-cerebro” integra muchas de las rutas de comunicación, como son las señalizaciones endocrinas del sistema inmune y las dependientes del nervio vago. Además, existen una serie de señalizaciones provenientes de metabolitos microbianos intestinales que funcionan como moléculas de señalización para el cerebro (Stilling et al., 2016).

El eje intestino-cerebro en el tiempo de desarrollo perinatal influye considerablemente en el desarrollo final del sistema nervioso y el cerebral. Es por ello que nuevas ramas de investigación se dirigen al estudio de las repercusiones de la microbiota intestinal en estos procesos. Existen indicios de las repercusiones en el desarrollo de la microbiota intestinal, ya que en modelos animales con estrés en el periodo perinatal y neonatal muestran cambios en la biomasa total de la microbiota entérica. Morais et al. (2021) mencionan algunos hallazgos cerebrales y respuestas fisiológicas tales como la activación del eje hipotalámico-pituitario- adrenal²⁰. Este eje está relacionado con animales recién nacidos y criados en ambientes libres de gérmenes o con animales criados de manera convencional. Existen perturbaciones en la microbiota intestinal temprana que presentan efectos duraderos en los fenotipos cerebrales y nerviosos de individuos adultos. Ejemplo de ellos son la diferencia en la sensibilidad visceral al dolor debido a administraciones de antibióticos en individuos de edad temprana. Si bien de momento no se conocen muchas relaciones directas entre estos eventos, existen modelos conductuales de estrés perinatal que han generado activaciones irregulares del eje hipotalámico-pituitario-adrenal, de la modulación del dolor, y la

²⁰ Conjunto complejo de influencias directas, indirectas e influencias retroalimentadas entre el hipotálamo (parte hueca del cerebro en forma de fuelle, que produce las hormonas que controlan la temperatura corporal, la frecuencia cardíaca, el hambre, los estados de ánimo, la liberación de hormonas de otras glándulas, la libido, el sueño o la sed), la glándula pituitaria (estructura en forma de haba localizada bajo el hipotálamo, que es parte importante del sistema endócrino y regula las hormonas del cuerpo, siendo conocida como la “glándula endócrina maestra”) y la glándula adrenal (glándula pequeña, preada y de forma piramidal localizada en la parte superior de los riñones, que producen hormonas esteroideas, epinefrina y norepinefrina)

función intestinal. Por ello, el eje intestino-microbiota-cerebro se considera un factor importante de vulnerabilidad en los modelos con trastornos psiquiátricos y gastrointestinales relacionados con el sistema nervioso (Lyte, 2013; Stilling et al., 2016).

El desarrollo del cerebro en gestación no solamente se ve afectado de manera directa por el entorno, también teorías recientes intentan relacionar la influencia de la microbiota intestinal materna con el desarrollo fetal cerebral. El estudio con ratones de Degroote et al. (2016) mostró que la exposición durante el embarazo tardío a un conjunto de antibióticos no absorbibles alteró la composición de la microbiota intestinal materna, lo cual tuvo una consecuencia severa en su descendencia mostrando disminución de la actividad y funcionamiento del aparato locomotor junto con cambios en la microbiota vaginal por el estrés materno. El uso de antibióticos durante el embarazo repercutió con cambios metabólicos en el cerebro e intestino de la descendencia (Jašarević et al., 2015).

La situación anterior, se torna interesante al ser estudiada en seres humanos, ya que a menudo muchas mujeres embarazadas reciben antibióticos durante el proceso de gestación para combatir infecciones comunes en el tracto urinario o bien por profilaxis, debido a la ruptura temprana de algunas membranas en los cambios fisiológicos naturales del embarazo. La constante exposición a antibióticos se ha relacionado con un mayor riesgo de parálisis cerebral en bebés prematuros e incluso se han señalado causantes de defectos congénitos y malformaciones en el tubo neural ²¹ (Degroote et al., 2016).

En ratas de la estirpe Wistar Degroote et al. (2016) estudiaron el comportamiento en ratas cuya madre tuvo una microbiota intestinal alterada previa a la concepción con antibióticos no absorbibles. Como resultado se obtuvo que la exposición de la madre a sulfonamida (succinilsulfatiazol) alteró el comportamiento de su

²¹ Estructura embrionaria precursora del sistema nervioso central, el cual se terminará desarrollando en el cerebro y médula espinal del individuo.

descendencia, ya que las crías, tuvieron un aumento de comportamientos similares a la ansiedad. Asimismo, presentaron interacciones sociales reducidas en el periodo correspondiente al prepuberal y cuando alcanzaron la edad adulta tuvieron una capacidad reducida de filtrar información. Adicionalmente, presentaron una disminución de la actividad sensorial y motora. En la microbiota intestinal, el succinilsulfatiazol redujo la cantidad de coliformes intestinales y de bacterias ácido-lácticas como los *Lactobacillus*. Estas últimas fueron las mayormente afectadas, ya que se disminuyó su proporción hasta en 100 veces, produciéndose un aumento en enterococos y en levaduras (Degroote et al., 2016; Tochitani et al., 2016).

La microbiota intestinal continúa regulando diversos aspectos cerebrales a lo largo de la vida. Existen evidencias de la regulación del eje microbiota-intestino-cerebro: En primer lugar, organismos libres de gérmenes (en muchas especies) mostraron cambios considerables en su cerebro, comparados con organismos homólogos que sí poseían una microbiota intestinal completa. Las deficiencias que se evidenciaron fueron las siguientes: Disrupciones en la ruta del axón²², comportamientos similares a la ansiedad, baja actividad motora, cambios específicos en el desarrollo de la microglía²³, respuestas inusuales a estímulos como el miedo, deterioro de la neuroplasticidad²⁴, disrupciones en la producción de los péptidos de señalización que regulan la obesidad en el hipotálamo, cambios en sus interacciones sociales, altas señalizaciones de GABA²⁵ en el hipocampo, problemas de memoria, e incluso diferencias entre la longitud de las dendritas neuronales o deficiencias de crecimiento en la espina interneuronal, acompañadas de diferencias de crecimiento en el cerebro (Chunchai et al., 2018; Cryan et al., 2019; Mayer et al., 2015).

²² Camino mediante el cual se transmite una señal electroquímica entre neuronas

²³ Tipo específico de célula de soporte neuronal presente en el sistema nervioso central cuya función principal es actuar como célula inmune

²⁴ Capacidad del sistema nervioso para modificarse y formar conexiones nerviosas en respuesta a información nueva, el desarrollo, la disfunción o el daño

²⁵ Ácido gamma aminobutírico, que presenta una señalización de neurotransmisor inhibitorio

Evidencias en ratas de la estirpe Wistar han demostrado problemas de captación cerebral de triptófano, comportamientos de trastornos de ansiedad y comportamientos sociales distintos entre su misma estirpe. Adicionalmente, se han observado problemas en los recubrimientos de mielina en los axones, cuya principal función en ratas convencionales es el de aumentar la eficiencia y rapidez de señalización eléctrica en las neuronas (Mayer et al., 2015).

En segundo lugar, colonizando individuos con cepas bacterianas específicas, provocaron cambios de comportamiento. Estos estudios se han mostrado como hallazgos con potencial de investigación en la salud humana (Bercik et al., 2011; Bravo et al., 2011). En tercer lugar, poblaciones completas de niños que padecieron una infección, presentaron alteraciones en el eje intestino-cerebro. Al ser replicado en un modelo animal se demostró que incluso las infecciones de bajo nivel repercuten, presentando inhibición en la actividad del sistema inmune (Thabane et al., 2010). En cuarto lugar, la utilización de antibióticos tanto a temprana edad como en edad adulta, presentan efectos de largo plazo en el cerebro, la médula espinal, y el sistema nervioso entérico (Cryan et al., 2019; O'Mahony et al., 2014; Verdu et al., 2008).

Algunos autores como Arseneault-Bréard et al. (2012), Chunchai et al. (2018) Crumeyrolle-Arias et al. (2014) y Davari et al. (2013) utilizan ratas como modelos de estudio del eje microbiota-intestino-cerebro debido a las similitudes con el eje humano. Las ratas libres de gérmenes con comportamientos similares a la ansiedad, estrés, depresión, respuestas extrañas a estímulos sensoriales, mala capacidad de memorización y consecuencias metabólicas generales, al ser colonizadas con microbiotas sanas (mediante trasplantes de materia fecal) presentan cambios benéficos y mejoras con el uso de probióticos.

Existen enormes diferencias en la estructura cerebral de las ratas y de los humanos. Las ratas tienen una proporción menor de la región cortical y por el contrario presentan una proporción mayoritaria en la región subcortical. En

contraste, en el ser humano es de manera inversa, tal como se muestra en la Imagen 5.7 (Mayer et al., 2015).

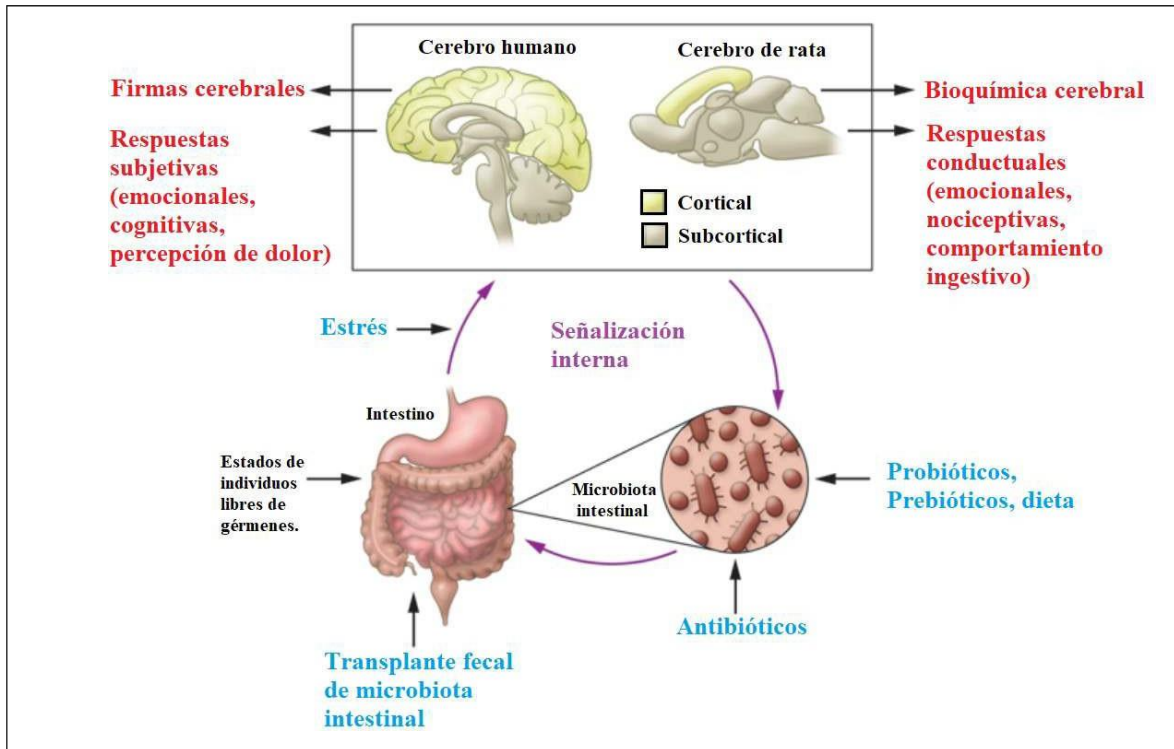


Imagen 5.7. Comparación del cerebro humano y el cerebro de rata. En contraste con los roedores, las respuestas subjetivas, estructurales, funcionales y las firmas cerebrales son lecturas adecuadas en sujetos humanos (modificado de Mayer et al., 2015)

El cerebro de las ratas normalmente es utilizado para estudios de bioquímica cerebral o bien de respuestas conductuales, ya que no es posible estudiarlo con la misma profundidad que el cerebro humano. Para el caso concreto de las ratas libres de gérmenes existen aún más limitaciones ya que existe una amplia variedad de diferencias bioquímicas cerebrales (hipotalámicos, pituitarios, etc.) e intestinales, así como de comportamiento. Recientemente se ha sugerido que el ambiente intrauterino no es estéril, existiendo también la posible participación de microorganismos intrauterinos en el desarrollo del cerebro fetal (Mayer et al., 2015).

Las bacterias de la microbiota intestinal poseen la capacidad de reconocer y responder a diversos neuroquímicos, ya sea afectando sus proporciones y/o

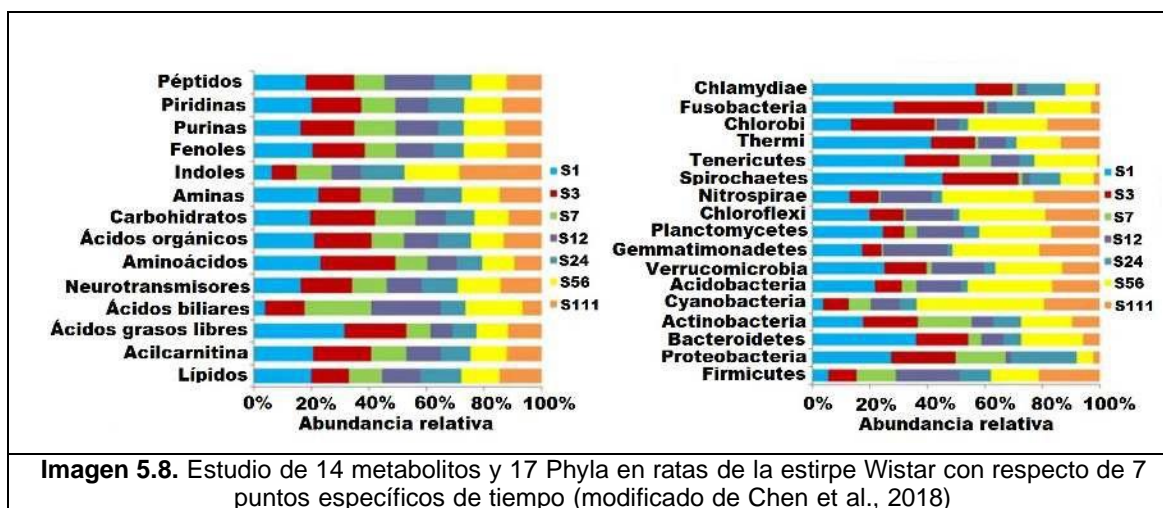
cambiando la composición de la microbiota intestinal tras sucesos ocurridos en el cerebro (como secreción de norepinefrina o aminas biogénicas). Con lo anterior se logra el reconocimiento a nivel intestinal de una amplia gama de hormonas neuroendocrinas como la somatostatina, la acetilcolina o la progesterona (Mayer et al., 2015).

Frecuentemente los mecanismos desencadenados por los microorganismos se encuentran relacionados en algún grado con el sistema inmune. Al modificar proporciones de la microbiota intestinal o al agregar algún microorganismo se provoca una respuesta inmunitaria. Sin embargo, aún faltan estudios que confirmen dicha aseveración (Mayer et al., 2015).

Las relaciones entre metabolitos y microbiota son de gran importancia, por ejemplo, los ácidos grasos libres tienen diversas funciones cerebrales desde edades tempranas y presentan algunas asociaciones cuando se altera la microbiota intestinal. Lo anterior se aprecia en las operaciones de bypass gástrico donde los ácidos biliares representan la señalización y comunicación entre la microbiota y el hígado. Los neurotransmisores son directamente sustancias químicas de señalización del intestino con el cerebro, y pueden afectar tanto en la composición microbiana como en la señalización y comportamiento cerebral (Chen et al. 2018).

Chen et al. (2018), intentaron asociar la microbiota intestinal con el metaboloma cerebral a partir de relacionar algunos metabolitos intestinales con alteraciones cerebrales. Este estudio fue realizado en ratas de la estirpe Wistar analizando 14 tipos distintos de metabolitos y relacionándolos con 17 distintos *Phyla* bacterianos (Imagen 5.8). Chen et al. (2018) observaron los cambios a las semanas 1, 3, 7, 12, 24, 56 y 111. Posteriormente se midieron las abundancias relativas tanto de metabolitos como de *Phyla* bacterianos. Los datos fueron utilizados para generar asociaciones entre un grupo de metabolitos y un *Phylum* bacteriano. Lo anterior con el objetivo de comprender cuales *Phyla* bacterianos se relacionan con las

diferentes señalizaciones químicas (Chen et al. 2018). Sin embargo, existen metabolitos generados por distintos *Phyla* en proporciones que la tecnología actual no permite cuantificar de manera correcta. No obstante, a pesar de estas limitaciones este tipo de metodología es altamente funcional al localizar “asociaciones” entre los metabolitos y los *Phyla* bacterianos (Chen et al., 2018).



El estudio de Chen et al. (2018) menciona que los lípidos y los aminoácidos fueron los metabolitos predominantes, representando el 42%. Los *Firmicutes* y las proteobacterias fueron los *Phyla* bacterianos mayoritarios, representando el 51%. Finalmente, los análisis estadísticos mostraron los siguientes apareamientos entre metabolitos y microbiota intestinal: Lípidos-*Espiroquetas*, ácidos grasos libres-*Firmicutes*, neurotransmisores-*Bacteroidetes*. Existen otras relaciones omitidas, como las de los lípidos con por lo menos otros 9 *Phyla*, o las espiroquetas en relación con la acilcarnitina, neurotransmisores, aminoácidos, indoles y piridinas. Por ello, se recomienda no realizar extrapolaciones sobre estas rutas de comunicación y continuar realizando estudios para tener avances en la complejidad del eje microbiota-intestino-cerebro (Chen et al., 2018).

Por otro lado, Chunchai et al. (2018) emplearon ratas de la estirpe Wistar alimentadas con una dieta alta en grasas durante 12 semanas. Los resultados mostraron una serie de cambios con respecto del comportamiento cerebral. Las

ratas alimentadas con la dieta alta en grasa mostraron alteraciones en la plasticidad del hipocampo de manera importante en comparación con aquellas que tenían una dieta estándar. Varios parámetros resultaron alterados como una disminución en la densidad de las espinas dendríticas, disfunción mitocondrial cerebral, disfunción microglial y un deterioro cognitivo. Además existieron cambios sistémicos tales como una resistencia a la insulina y una inflamación intestinal de bajo grado. La evidencia indicó que dichos problemas fueron producidos por el estrés oxidativo en el cerebro, la inflamación intestinal (que se vuelve sistémica por vía sanguínea), la inflamación cerebral y la apoptosis en el hipocampo (Chunchai et al., 2018). Sin embargo, una ingesta diaria de probióticos y prebióticos en conjunto, (concretamente *Lactobacillus paracasei* y Xylooligoglúcidos) revirtieron dichas alteraciones. Asimismo, se logró atenuar la inflamación intestinal, una reducción del estrés oxidativo del cerebro y del hipocampo. Por otro lado, las mejoras encontradas fueron el aumento de la densidad de las espinas dendríticas, mejora en la microglía, activación de la plasticidad del hipocampo y eliminación de la disfunción mitocondrial cerebral. Todos estos procesos condujeron finalmente a la restauración de la función cognitiva (Chunchai et al., 2018).

Stilling et al. (2016) mencionan que los ácidos grasos de cadena corta (principalmente el butirato, el acetato y el propionato) son potentes reguladores de diversas funciones inmunes, metabólicas y neurológicas del eje intestino-cerebro. Estos ácidos grasos de cadena corta se encuentran estructuralmente relacionados con los cuerpos cetónicos que muestran efectos en varias enfermedades como son la obesidad, la diabetes, la inflamación intestinal, el cáncer colorrectal y las enfermedades neurológicas (Stilling et al., 2016). El butirato (Imagen 5.9) es una señal de comunicación entre el cerebro y la microbiota intestinal. Además trabaja junto con receptores y transportadores específicos de células (Imagen 5.10). Sus efectos son mediados por la energía de la ruta metabólica de la β -oxidación. Esta ruta metabólica promueve la acetilación de histonas, determinando la expresión genética de algunas células. Debido a lo anterior, se propone el uso del butirato en

dosis suprafisiológicas (de 100 a 1200 mg/kg m.c.) como un fármaco experimental para tratar enfermedades neurológicas y neurofisiológicas (como deterioro cognitivo o enfermedades neurodegenerativas) en modelos animales (Stilling et al., 2016).

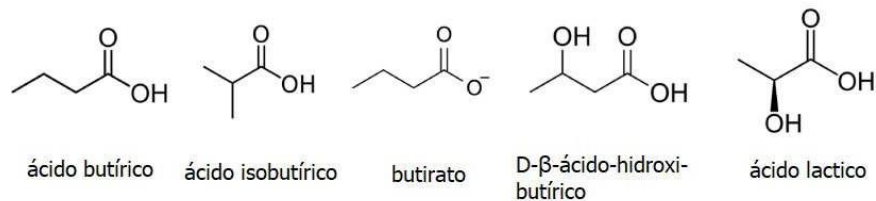


Imagen 5.9. Estructuras químicas del ácido butírico, isobutírico, butirato, D-β-ácido hidroxibutírico y ácido láctico (modificado de Stilling et al., 2016)

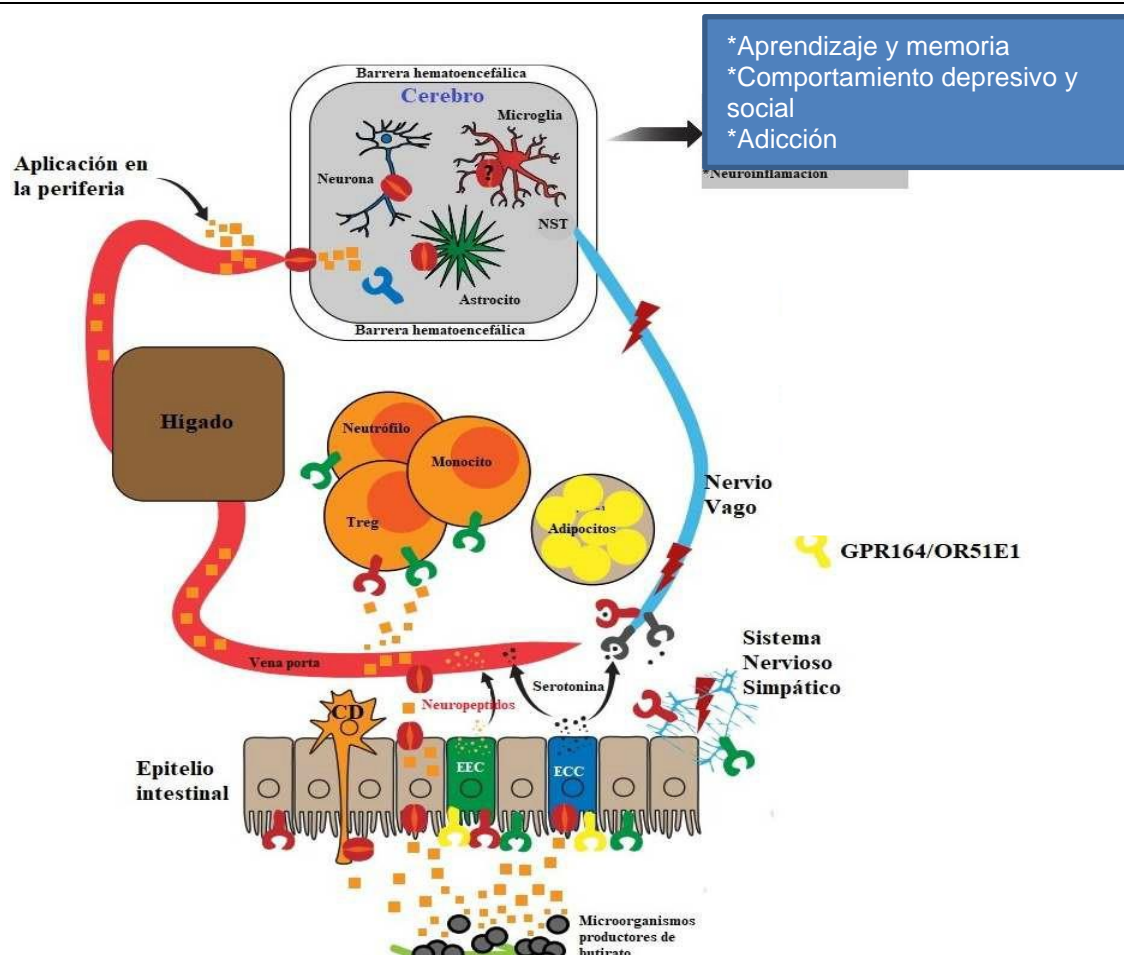
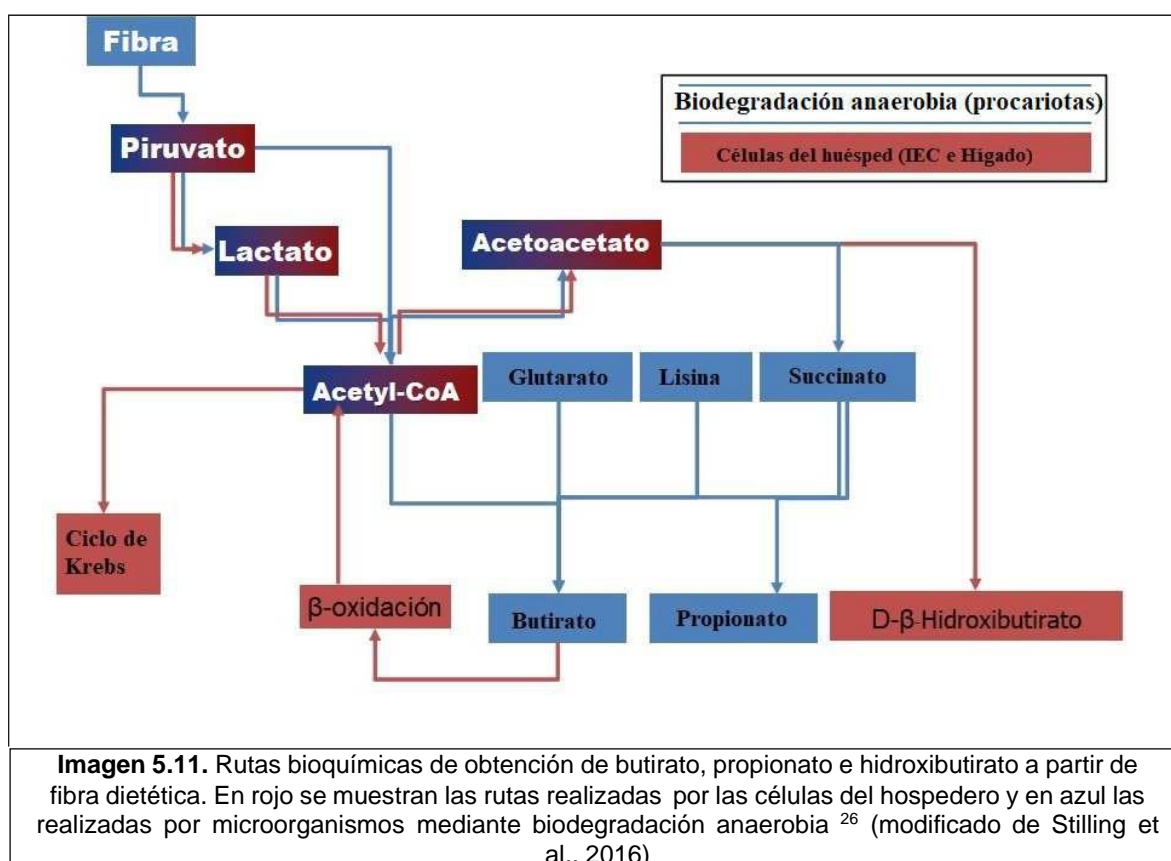


Imagen 5.10. Diagrama que ejemplifica la comunicación de la microbiota intestinal productora de butirato con el epitelio intestinal. A su vez, se muestra la comunicación del epitelio intestinal con el resto del organismo a través de serotonina y neuropeptidos (modificado de Stilling et al., 2016)

En la microbiota intestinal existen muchas vías de síntesis de butirato. No obstante, la vía más frecuente es la de acetil-coenzima A. Esta ruta inicia a través de piruvato, derivado de la biodegradación de carbohidratos no digeribles por el hospedero (fibra dietética). También existe la vía del lactato y 3 rutas de síntesis alternativas, descritas a partir de glutarato, lisina y succinato. El último paso de las vías de síntesis de butirato es la butirogénesis, donde se da la conversión de butiril fosfato a butirato por la enzima butirato quinasa. Estas rutas bioquímicas se muestran en la imagen 5.11. El butirato es utilizado por las células del hospedero para el proceso de β -oxidación de la mitocondria, generando NADH, H⁺, y acetil coenzima A. Este último se puede utilizar para generar ATP en el ciclo de Krebs en las mitocondrias como se muestra en la Imagen 5.11 (Stilling et al., 2016).



²⁶ La fermentación, término creado por Louis Pasteur para la bioconversión anaerobia de la glucosa a etanol y CO₂ por la levadura *Saccharomyces cerevisiae* no debe usarse para otras bioconversiones o biorreacciones o biodegradaciones pero no fermentaciones. En español el término anaerobio del griego (an=alfa privativa,

Stilling et al. (2016) describen que en ratas de la estirpe Wistar existen múltiples beneficios de la utilización de butirato, 4-fenilbutirato y bacterias productoras de butirato para modular la fisiología y funciones cerebrales. Los principales beneficios de utilizar estas moléculas son los siguientes:

- 1) Disminución de la necesidad de la administración de drogas a ratas con psicosis y/o abuso de drogas.
- 2) Aumento de la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial en la corteza prefrontal.
- 3) Disminución de la actividad locomotora sin control en ratas con manías y desórdenes mentales.
- 4) Aumento de la capacidad de retención de memoria en ratas de edad avanzada y en las sobrecargadas de hierro.
- 5) Disminución del estrés oxidativo en ratas con manías y desórdenes bipolares (ratas tratadas con anfetamina).
- 6) Incremento de la actividad enzimática en el ciclo de Krebs (en ratas tratadas con anfetaminas).
- 7) Decremento del comportamiento similar al depresivo en ratas con baja actividad motora y cerebral.
- 8) Aumento de la acetilación de histonas ²⁷ en distintas áreas cerebrales.

Estas evidencias sugieren la existencia de una gran conexión entre la microbiota intestinal y el cerebro (Imagen 5.11). Lo cual abre paso a nuevas investigaciones para comprender de manera más adecuada y certera esta conexión microbiota intestinal-cerebro. Posiblemente estos conocimientos permitan desarrollar nuevos tratamientos o medidas de prevención para enfermedades y malfuncionamientos cerebrales (Stilling et al., 2016).

aeros=aire→ oxígeno, y bios=vida) por lo que no es necesario usar el anglicismo “anaerobic” (nota de la asesora)

²⁷ Mecanismo epigenético que regula la expresión genética, afectando la estructura y metabolismo de la cromatina

CAPÍTULO 6

REPERCUSIONES A LA SALUD GENERADAS POR EL CONSUMO DE ADITIVOS ALIMENTARIOS

6.1 Repercusiones de la microbiota intestinal

6.1.1 Edulcorantes

Los aditivos alimentarios son de las sustancias de mayor importancia en la industria alimentaria y se encuentran presentes en prácticamente todos los productos industrializados.

Diversas investigaciones consideran que pueden ser sustancias que afecten a la microbiota intestinal por su consumo. Algunos autores señalan que el consumo de edulcorantes no nutritivos tienen efectos en distintos filos o especies bacterianas (Anderson y Kirkland, 1980; Bian et al., 2017a; Bian et al., 2017b; Cao et al., 2020; Palmnäs et al., 2014;)

A continuación, se describen brevemente las alteraciones de la microbiota intestinal por algunos edulcorantes no nutritivos.

Acesulfame de potasio. Se ha demostrado en ratones macho que el consumo de acesulfame de potasio aumenta la cantidad de *Bacteroides*, *Firmicutes*, *Sutturella* y *Anaerostipes*. En contraste, en ratas hembras el consumo de acesulfame de K (15 mg/kg.m.c día) provocó una baja cantidad de *Oxalobacteraceae*, *Clostridium*, *Lactobacillus* y *Ruminococcaceae* (Bian et al., 2017a; Cao et al., 2020).

Aspartame. El consumo diario de aspartame (40 mg/kg. m.c.) en ratas macho durante 8 semanas demostró aumentos de *Firmicutes* y *Clostridium* clúster, así

como una disminución en la cantidad de *Bacteroides* y *Prevotella* (Cao et al., 2020; Palmnäs et al., 2014).

Sacarina. En ratas macho que consumieron sacarina (5 mg/kg.m.c.) durante 10 días aumentaron la cantidad de bacterias aerobias en el ciego. No obstante, no existieron cambios en la cantidad de bacterias anaerobias (Anderson y Kirkland, 1980; Cao et al., 2020).

En ratones, el consumo de sacarina (0.3 mg/mL en agua de consumo normal) durante periodos de tres y seis meses mostró cambios drásticos en la microbiota intestinal. Concretamente las proporciones de *Roseburia*, *Sporosarcina*, *Jeotgalicoccus*, *Akkermansia*, *Oscillospira* y *Corynebacterium* aumentaron significativamente. Por su parte, *Anaerostipes*, *Ruminococcus*, *Adlercreutzia* y *Dorea* mostraron una disminución, confirmando lo mencionado por Suez et al. (2014 sobre las afectaciones a la microbiota con el consumo de Sacarina (Bian et al., 2017b).

Sucralosa. En ratas macho que consumieron sucralosa (15 mg/kg.m.c.) disminuyeron la cantidad de los géneros de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacteroides* y *Clostridia* (Abou-Donia et al., 2008; Cao et al., 2020).

6.1.2. Otros aditivos

A continuación, se describe de forma sucinta los cambios causados en la microbiota por el consumo de otros aditivos.

Proantocianidinas. Otro tipo de aditivos son las proantocianidinas (antioxidantes). Se ha reportado que el consumo de estas proantocianidinas causan efectos negativos sobre los siguientes *Phyla*: Disminución de *Firmicutes*, con un aumento de *Bacteroidetes* y *Proteobacterias*. Asimismo, existe un aumento en las familias de las bacterias *Bacteriodaceae*, *Porphyromonadaceae*, *Alcaligenaceae* y

Veillonellaceae, con una disminución de *Ruminococcaceae* y *Dehalobacteriaceae*. Además, aumentaron los géneros *Bacteroides*, *Parabacteroides sutterella*, *Phascolarctobacterium*, *billophila*.

No obstante, se reporta la disminución de *Ruminococcus* después del consumo durante 8 días de extracto de proantocianidinas de uva (500 mg/ kg m.c.) (Casanova-Martí et al., 2017; Čoklo et al., 2020).

Compuestos fenólicos (antioxidantes). Ratas que consumieron constantemente compuestos fenólicos mostraron un aumento del género *Bifidobacterium*. En contraste, el consumo durante 14 meses de compuestos fenólicos (2.5, 5, 10 y 20 mg/ kg m.c.) eliminó el crecimiento de la especie *Clostridium sensu stricto*. (Chacar et al., 2018; Čoklo et al., 2020).

Fructanos (prebióticos). En ratas el consumo de fructanos durante 4 semanas aumentó la cantidad presente de *Lactobacillus spp.* en heces fecales (Čoklo et al., 2020; Jasso-Padilla et al., 2017).

Pectinas (gelificante): En ratas que consumieron extracto de prebióticos de *Agave salmiana* en conjunto con una dieta normal durante 12 semanas aumentaron las proporciones del filo de los *Firmicutes*, especies de *Lactobacillus* y *Lachnospiraceae*. Asimismo, se encontró una disminución del filo de los *Bacteroidetes* y de especies del género *Akkermansia* (Čoklo et al., 2020; Jasso- Padilla et al., 2017).

Como se aprecia el consumo de diversos aditivos genera cambios en las abundancias relativas de diversos, filos, géneros y especies bacterianas. Por lo tanto, pueden existir repercusiones en la salud derivadas de la alteración de la microbiota.

6.2. Evaluación de las repercusiones a nivel: Fisiológico, metabólico y nutricional sobre el consumo de aditivos alimentarios

Existen en la actualidad una gama enorme de aditivos alimentarios utilizados para conservar, teñir o mejorar algunos atributos de los alimentos según los fabricantes. El uso desmedido de aditivos alimentarios es el resultado y consecuencia de la industrialización y desarrollo tecnológico de diversos productos de consumo. Un aditivo es aprobado para el consumo humano después de realizarle diversos estudios sobre su toxicidad aguda, subaguda y crónica (Moutinho et al., 2007).

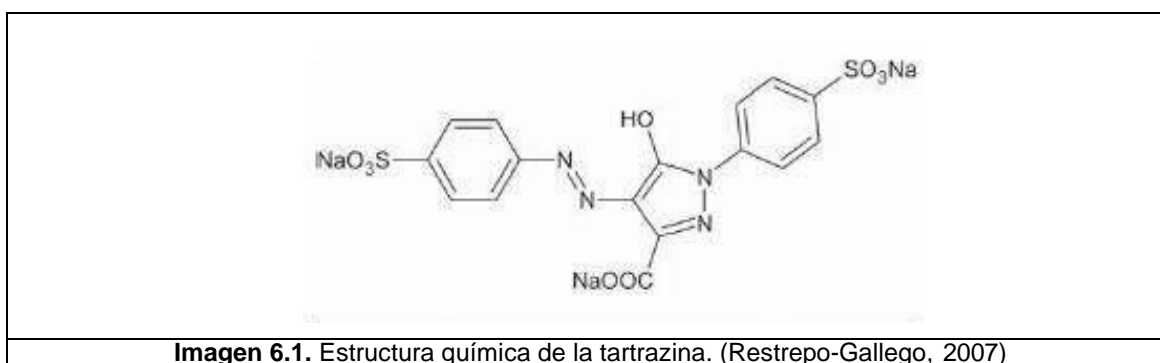
La vigilancia constante de sus efectos post-comercialización debería continuar durante largos periodos de tiempo. Asimismo, deberían analizarse los efectos de las distintas combinaciones de aditivos en las diversas matrices alimentarias (Durán-Domínguez-de-Bazúa, 2017).

Los efectos provocados por la ingesta de un aditivo en un organismo no solamente depende de su dosis, sino también de la edad, el sexo, el estado nutricional, los factores genéticos del individuo. Asimismo, también dependen del periodo de exposición y una serie de variables casi interminables. En ocasiones la toxicidad no radica en el compuesto químico usado como un aditivo, sino de los metabolitos producidos después de su consumo e, incluso, pueden tener repercusiones sutiles como la diferencia mínima en la excreción o absorción de una sustancia totalmente ajena a dicho aditivo (Moutinho et al., 2007).

A continuación, se presentan estudios donde se encontraron repercusiones fisiológicas y/o metabólicas debidas al consumo de diversos aditivos alimentarios.

6.2.1. Colorantes

Tartrazina. Aboel-Zahab et al. (1997) describieron un aumento de eosinófilos²⁸ en la sangre tras el consumo de tartrazina (Imagen 6.1) durante 30 y 60 días. Esta respuesta es similar a la observada cuando el sistema inmune intenta combatir una infección.



En el estudio de Moutinho et al. (2007), realizado con ratas Wistar, se observó la producción de grandes cantidades de ácido sulfanílico. Este compuesto es producido por la microbiota intestinal. Además, los autores reportaron un aumento de varias células del sistema inmune. Este incremento de células del sistema inmune es similar al aumento observado durante el combate a una infección o la presencia de una alergia. Asimismo se observó la presencia de células granulares en el estómago. En humanos la presencia de células granulares en el estómago se asocia al desarrollo de tumores gastrointestinales.

Eritrosina. El consumo de este aditivo durante 7 días (Imagen 6.2) en dosis de 20 y 40 mg/kg m.c. provocó un aumento significativo de los niveles séricos de glucosa y colesterol en ratas macho de la estirpe Wistar (Wopara et al., 2019).

Curcumina. Este colorante existe en un equilibrio tautomérico en su forma ceto y enol (Imagen 6.3). La curcumina fue suministrada a 2 generaciones de ratas de la

²⁸ Tipo específico de células del sistema inmune (perteneciente a los granulocitos del sistema mieloide) que contiene gránulos con enzimas para desnaturalizar proteínas de organismos patógenos

estirpe Wistar. El consumo de este aditivo no provocó cambios en la producción de tumores, ni aumento de masa corporal ni cambios potenciales en la reproducción (Ganiger et al., 2006).

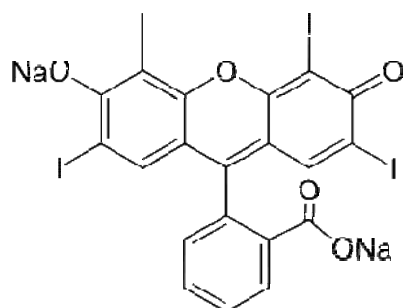


Imagen 6.2. Estructura química de la eritrosina (Anónimo, 2019a)

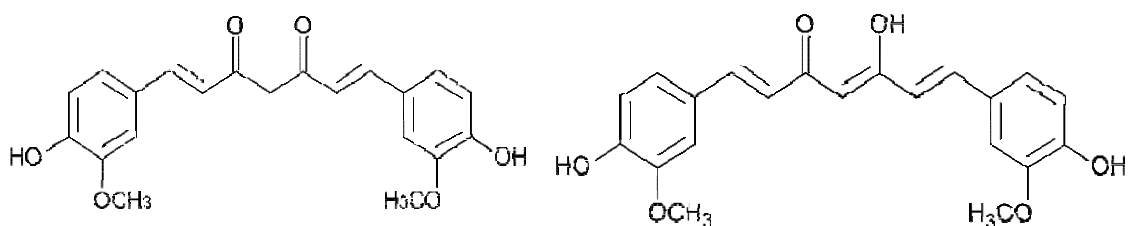


Imagen 6.3. Estructuras químicas de la curcumina en sus formas ceto y enol respectivamente (Anónimo, 2021a)

Dióxido de titanio (TiO₂). El dióxido de titanio es considerado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como uno de los colorantes alimentarios más seguros con un LD50 en ratas de 12,000 mg/kg.m.c. Sin embargo, estudios recientes, del Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (*IARC* por sus siglas en inglés) han señalado a las nanopartículas²⁹ de dióxido de titanio como un posible agente carcinogénico en humanos. Un estudio realizado en ratas macho adultas de la estirpe Wistar demostró la existencia de efectos secundarios adversos en el consumo de nano-partículas de dióxido de titanio. Entre los efectos adversos se reportó toxicidad en el riñón e hígado de ratas tras una administración de TiO₂ a dosis de 50 y 100 mg/kg m.c. Por lo tanto, se concluyó que tendrían que realizarse

²⁹ Partícula que es más pequeña que 100 nanómetros (milmillonésima parte de un metro)

mayores estudios en la exposición humana a este colorante (Vasantharaja et al., 2014).

6.2.2. Potenciadores de sabor

Monoglutamato de sodio. Este potenciador de sabor (Imagen 6.4) es un aditivo de libre adquisición el cual, en algunas ocasiones, llega a ser utilizado en exceso en comidas orientales o muy condimentadas. El consumo excesivo en ratas de la estirpe Wistar a dosis altas (de 3 a 6 gramos por día) ha ocasionado daños a nivel tisular en riñones, daños irreparables en la composición de la estructura del riñón, así como una disminución de conteo de corpúsculos renales. Lo anterior provocó en las ratas de experimentación una necrosis celular e insuficiencia renal (Eweka y Om'Iniabohs, 2008). Para el caso del hígado, se ha encontrado que el consumo de altas dosis de este potenciador puede afectar la función hematopoyética del hígado (disminución en la producción de glóbulos rojos y blancos producidos por el hígado). Por ello, se debe reconsiderar la toxicidad del monoglutamato de sodio, porque puede incluso provocar necrosis hepática (Eweka et al., 2011).

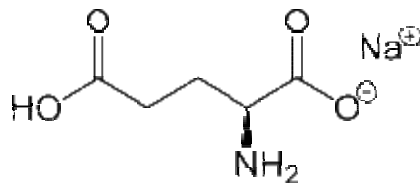


Imagen 6.4. Estructura química del monoglutamato de sodio (Anónimo, 2022a)

6.2.3. Conservadores

Sulfito de sodio. Es un compuesto de azufre, como se aprecia en la Imagen 6.5, capaz de liberar dióxido de azufre (SO₂). El SO₂ es el componente que ayuda a conservar los alimentos actuando como antioxidante y previniendo oscurecimientos. Los dióxidos de azufre existen de manera natural en productos fermentados como son la cerveza o el vino y generalmente son producidos por levaduras. En un estudio realizado con ratas Wistar se concluyó que dicho aditivo

no representaba ningún riesgo para salud, al no mostrar repercusiones, con la excepción de los individuos que carecen de la enzima sulfito oxidasa, necesaria para su degradación (García-Fuentes et al., 2015).

Por otra parte, Ciardi et al. (2012) demostraron que el sulfito de sodio provoca una disminución de la liberación de leptina y un incremento en la secreción de IL-6. Estos cambios se asociaron a tener obesidad por hiperfagia y a presentar inflamación similar a la causada por una infección. Este estudio se realizó en cultivos *in-vitro* de adipocitos.

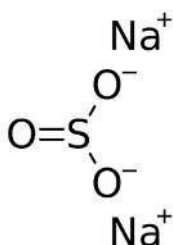


Imagen 6.5. Estructura química del sulfito de sodio anhidro (Anónimo, 2022b)

Benzoato de sodio. Este conservador (Imagen 6.6) afectó la liberación de leptina en cultivos *in-vitro* de adipocitos (el porcentaje de disminución dependió de la dosis agregada del conservador) (Ciardi et al., 2012). Del mismo modo Brial et al. (2022) demostraron que la administración crónica de este conservador en la dieta produce efectos adversos sobre la tolerancia a la glucosa y aumentan la generación de adiposidad en ratones sanos. Asimismo, los ratones que consumieron el benzoato de sodio mostraron inflamación hepática (Brial et al., 2022).

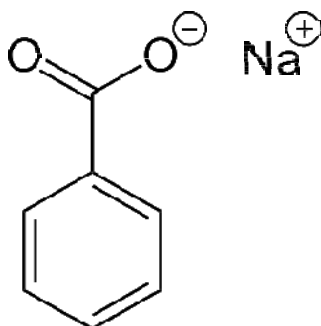


Imagen 6.6.- Estructura química del benzoato de sodio (Anónimo, 2021b)

6.2.4. Edulcorantes artificiales

Acesulfame de potasio/Sucralosa: Esta combinación de 2 edulcorantes (mostrados en las Imágenes 6.7 y 6.8, al ser suministrados en agua endulzada a ratas Wistar demostraron tener repercusiones en la disminución de la función vascular dependiente del endotelio. Esto demuestra la existencia de un estrés hiperglucémico agudo provocado por bebidas endulzadas con edulcorantes artificiales. Del mismo modo lo anterior confirma el hecho de que los edulcorantes artificiales pueden aumentar el riesgo de padecer disfunción vascular. Asimismo, el consumo de esta mezcla puede provocar desequilibrios de la homeostasis corporal por el cambio de distribución del tejido adiposo. Lo anterior, señala que podría aumentar el riesgo cardiometabólico. No obstante, deben realizarse futuros estudios para corroborar esta hipótesis (Risdon et al., 2020).

Acesulfame de potasio. Los ratones estirpe CD-1 presentan alteraciones metabólicas y fisiológicas al consumir acesulfame de potasio (Imagen 6.7) en dosis diarias de 37.5 mg/kg m.c. Los ratones macho aumentaron significativamente de masa corporal. En contraste las hembras no tuvieron incrementos significativos de masa. La abundancia relativa de genes implicados en la absorción o transporte de carbohidratos se vieron reducidos significativamente. En contraste, muchos genes implicados en el metabolismo de lipopoliglúcidos aumentaron como consecuencia del desequilibrio en la microbiota intestinal y el síndrome metabólico (Bian et al., 2017a).

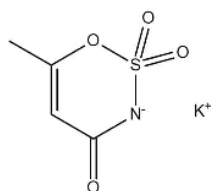


Imagen 6.7. Estructura química del acesulfame de potasio (Anónimo, 2019b)

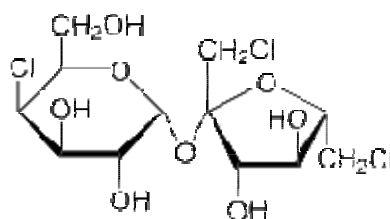


Imagen 6.8. Estructura química de la sucralosa (Anónimo, 2022c)

Sacarina: Estudios realizados en ratas Wistar utilizando yogur endulzado con y sin sacarina (Imagen 6.9) concluyeron que el consumo de sacarina provocó aumento de masa corporal. Lo anterior a pesar de no aumentar la ingesta calórica ni promover la resistencia a la insulina, posiblemente mediante una mayor absorción de glucosa en el intestino (Carraro-Foletto et al., 2016). Suez et al. (2014) mencionan que el consumo de sacarina en ratones y humanos aumenta el riesgo de intolerancia a la glucosa. Además, el consumo de este edulcorante hipo calórico aumenta las probabilidades de presentar diabetes mellitus u obesidad. Los cambios metabólicos ocasionados por el consumo de este edulcorante son la alteración del metabolismo de esfingolípidos y lipopoliglúcidos. Bian et al. (2017b) estudiaron los efectos de la sacarina empleando ratones. A estos ratones se les dio de beber agua potable endulzada con sacarina, en una dosis equivalente a la ingesta diaria admisible en humanos. Los resultados de su estudio encontraron 2 genes característicos de la inflamación crónica sobre-expresados después del consumo. Estos genes fueron los codificantes para la enzima óxido nítrico sintasa y el factor de necrosis tumoral alfa. La expresión elevada de estos genes sugiere que los ratones que consumieron sacarina presentaron una inflamación del hígado, así como alteraciones en las funciones metabólicas de este órgano (Bian et al., 2017b).

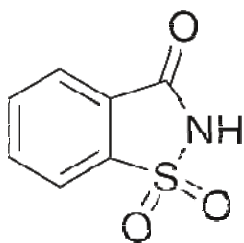


Imagen 6.9. Estructura química de la sacarina (Anónimo, 2022d)

Aspartame: El consumo de aspartame (Imagen 6.10) ha presentado diversas repercusiones en órganos de ratas de la estirpe Wistar. Algunas de las respuestas

más evidentes en el organismo son el aumento de radicales libres³⁰. Este aumento de radicales libres provocó un aumento en el estrés oxidativo en distintos órganos del sistema inmune. Los compuestos producidos por la biodegradación del aspartame (metanol y formaldehído) son considerados tóxicos en grandes concentraciones para varios órganos. El estrés resultante de dichos procesos resulta en una inflamación de los órganos del sistema inmune, los cuales, junto con los altos niveles de corticosteroides (monitoreados en el mismo estudio), pueden resultar en un efecto inmunosupresivo (Kumar-Choudhary y Sheela-Devi, 2014). Palmnäs et al. (2014) alimentaron ratas con dietas altas en grasas y dietas estándar. Ambos grupos experimentales bebieron agua endulzada con aspartame en dosis de 60 mg/L durante 8 semanas. Las ratas que ingirieron la disolución de aspartame y la dieta alta en grasa presentaron un aumento de masa corporal. Asimismo, estas ratas aumentaron sus niveles de triglicéridos hepáticos. Ambos grupos, dieta alta en grasa + aspartame y dieta normal + aspartame, presentaron niveles elevados de glucosa en ayunas y mala respuesta a la insulina. Se concluyó que el aspartame se metaboliza rápidamente y eleva los niveles de propionato en el intestino alterando la microbiota intestinal (Palmnäs et al., 2014).

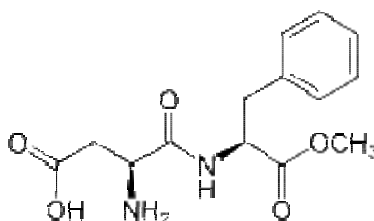


Imagen 6.10. Estructura química del aspartame (Anónimo, 2022e)

Sucralosa. Gupta et al. (2014) suministraron sucralosa (Imagen 6.11) en cantidades elevadas a ratas macho albinas y observaron toxicidad en el páncreas en forma de cálculos, infiltraciones de linfocitos (inflamación) y degeneración de islotes pancreáticos. Por otro lado, Farid et al. (2020) suministraron diferentes dosis de sucralosa a ratones albinos macho y hembra de la estirpe BALB/c. Los autores

³⁰ Los radicales libres son moléculas inestables elaboradas durante el metabolismo normal de las células (cambios químicos que ocurren en una célula). Los radicales libres se pueden acumular en las células y dañar otras moléculas. El daño puede aumentar el riesgo de padecer de cáncer y otras enfermedades

concluyeron que el consumo de sucralosa incrementó la glicemia, los niveles de actividad de algunas enzimas hepáticas y los niveles de urea y creatinina.

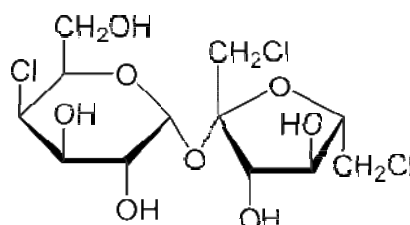


Imagen 6.11. Estructura química de la sucralosa (Anónimo 2022c)

6.2.5. Emulsificantes

Goma arábica. En ratas de la estirpe Wistar, el consumo de goma arábica (Imagen 6.12) ha provocado pérdida de masa corporal.

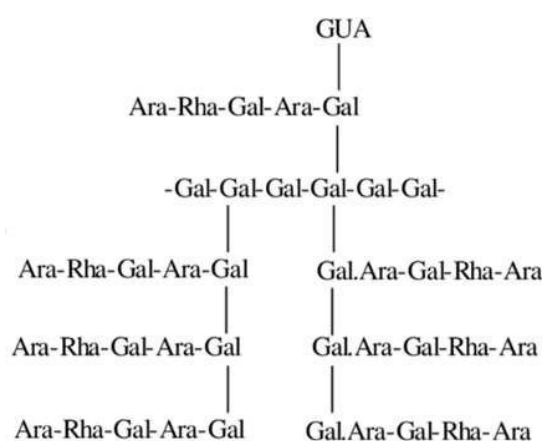


Imagen 6.12. Estructura de la goma arábica, un polisacárido conformado por: D-galactosa (Gal), L-arabinosa (Ara), ácido D-glucurónico (GUA) y L-ramnosa (Rha) (Vicente, 2018)

Esta pérdida de masa es proporcional a la dosis (Tabla 4).

Tabla 4. Relación de masa corporal perdida contra el consumo de goma arábica suministrada a diferentes dosis (Longdet et al., 2018)

Grupos	Masa final	Masa inicial	Masa perdida
Control	160g	170g	10g
200 mg /kg m.c.	150g	170g	20g
400 mg /kg m.c.	140g	170g	30g
600 mg /kg m.c.	130g	170g	40g

De la misma forma, al evaluar el contenido de glucosa en sangre hubo un aumento significativo con respecto del grupo control en intervalos de tiempo específico. A lo largo de dos horas, las dosis de 200, 400 y 600 mg, aumentaron en 20, 10 y 14% los niveles de glucosa en sangre, respectivamente. La dosis de 400 mg provocó el menor aumento incluso en periodos menores. En cuanto al monitoreo del perfil lipídico, se encontró que el consumo de goma arábica disminuyó considerablemente la cantidad de triglicéridos en sangre. Lo anterior sugiere una alteración de la homeostasis lipídica. Estos cambios provocados por el consumo de goma arábica no necesariamente representan efectos adversos. Por el contrario, estas propiedades podrían utilizarse para formular matrices alimentarias específicas con goma arábica para tener una pérdida de masa. No obstante, es necesario realizar una mayor investigación para conseguir controlar el efecto hipoglucemiante de la goma arábica (Longdet et al., 2018).

CAPÍTULO 7

AFECTACIONES A LA SALUD RELACIONADAS CON LA MICROBIOTA INTESTINAL

7.1. Disbiosis

Existe un vínculo estrecho entre la salud del individuo y su microbiota intestinal, el beneficio mutuo en el que conviven es un equilibrio llamado eubiosis. La eubiosis es un estado general de salud y equilibrio entre ambos que genera la optimización de la obtención de energía en el huésped. Por el contrario, la disbiosis es un estado alterado de este equilibrio, que se asocia con diversos estados patológicos, y es de origen multifactorial (Gual-Grau, 2019; Marques et al., 2015; Neyrinck et al., 2012).

Se considera a la dieta como un agente clave en el estado de la microbiota intestinal. Asimismo, la disbiosis puede producir obesidad, cambios fisiológicos y metabólicos (Gual-Grau, 2019; Marques et al., 2015; Neyrinck et al., 2012).

En la eubiosis los microorganismos presentes en el epitelio intestinal se benefician de un constante suministro de nutrientes, así como de un ambiente controlado de temperatura y humedad. Por su parte, el hospedero se beneficia de productos biotransformados, como ácidos grasos de cadena corta y vitaminas. Asimismo, el hospedero obtiene un mejor desarrollo y funcionamiento del epitelio gastrointestinal. Además, existe la transferencia de nutrientes al hígado y al tejido adiposo (Gual-Grau, 2019).

Los filos de mayor dominancia en proporción en el tracto gastrointestinal son los *Firmicutes* y los *Bacteroidetes*, representando en algunas especies el 90% de los microorganismos presentes en el epitelio intestinal. De manera simplificada la disbiosis se puede determinar con la proporción entre estos dos filos. Diversas repercusiones en el organismo se asocian al cambio en la proporción de estos filos bacterianos (Gual-Grau, 2019).

Los *Firmicutes* están conformados principalmente por bacterias gram positivas de pared celular rígida o semirrígida. Los géneros predominantes son *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* y *Ruminococcus*. Los *Bacteroidetes* incluyen aproximadamente 7000 especies de bacterias gram negativas. Los géneros predominantes de los *Bacteroidetes* son: *Bacteroides*, *Alistipes*, *Parabacteroides* y *Prevotella* (Gual-Grau, 2019; Stojanov et al., 2020).

Comúnmente la disbiosis provocada por el aumento de *Firmicutes* produce obesidad. En contraste, un aumento significativo de *Bacteroidetes* produce una enfermedad inflamatoria intestinal como se muestra en la Imagen 7.1 (Stojanov et al., 2020).

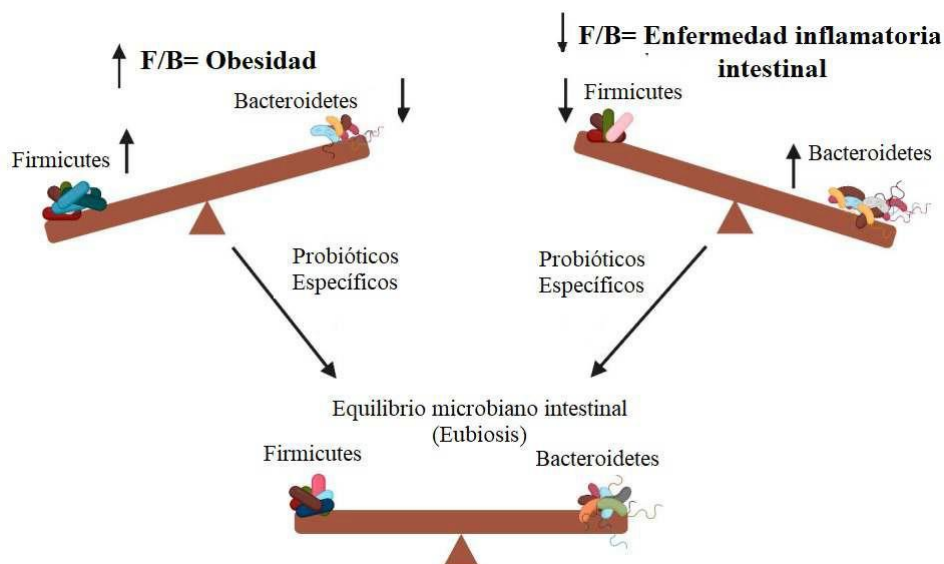


Imagen 7.1. Desbalances que pueden ocurrir en la microbiota intestinal, así como sus correcciones con probióticos (modificado de Stojanov et al., 2020)

Existen métodos para generar disbiosis en modelos animales con el fin de observar sus diversas repercusiones bioquímicas y demás cambios en el organismo más allá de la obesidad. En el estudio de Silveira et al. (2018) se observaron las repercusiones de suministrar cafeína (0.0007 g/kg), guaraná (0.021 g/kg) y solución salina (1 mL/kg como control) por 21 días a ratas Wistar. Se observaron diversos cambios en las proporciones de sus filos bacterianos como se muestran en las Imágenes 7.2 y 7.3 con un énfasis en *Firmicutes* y *Bacteroidetes* (Silveira et al., 2018).

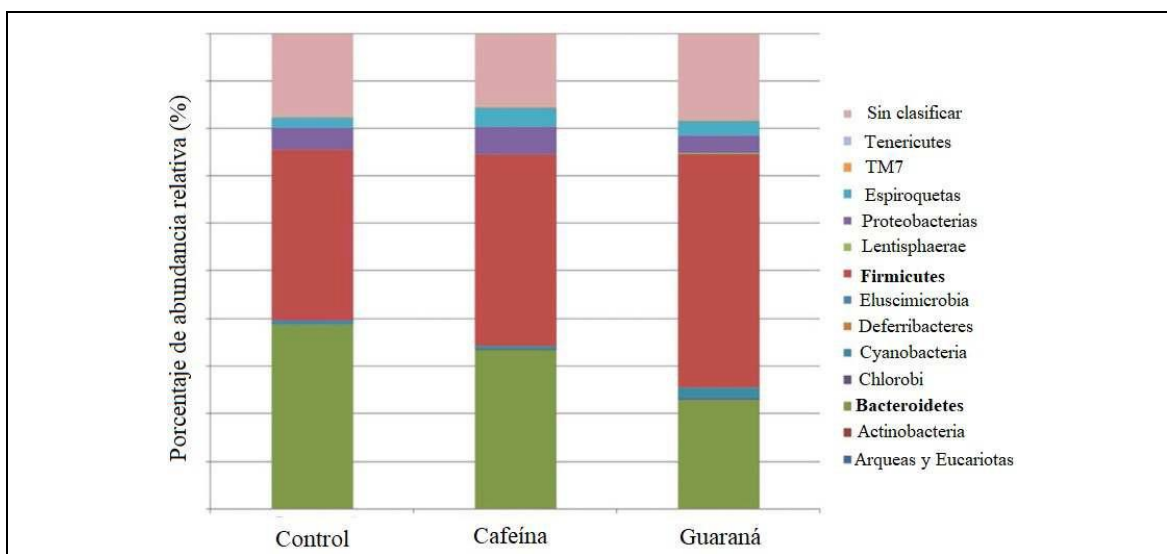


Imagen 7.2. Cambios observados en la microbiota intestinal tras el suministro de cafeína y guaraná, comparados con un grupo control de ratas Wistar saludables (modificado de Silveira et al., 2018)

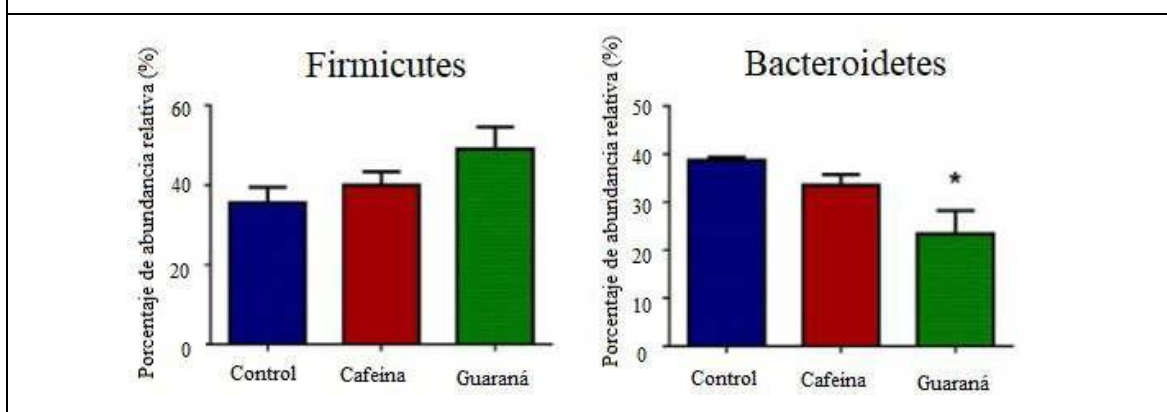


Imagen 7.3. Cambios observados en las proporciones de Firmicutes y Bacteroidetes tras el suministros de cafeína y guaraná (modificado de Silveira et al., 2018)

Una de las principales consecuencias de la disbiosis causada por el suministro de cafeína fue la disminución de *Lactobacillus*. Las especies de *Lactobacillus* son microorganismos comúnmente usados como probiótico, y bioindicadores de una microbiota intestinal saludable. Además, este tipo de microorganismos produce exopoliglúcidos³¹, los cuales ayudan a la regulación intestinal y al crecimiento de microorganismos benéficos (Silveira et al., 2018).

La disbiosis intestinal provocada por la cafeína y el guaraná también causó diversos cambios bioquímicos en el organismo de las ratas (en el colon, los riñones y el hígado). Por ejemplo, se mostraron cambios significativos en la actividad enzimática de diversos marcadores de desintoxicación y estrés oxidativo, así como en citocinas proinflamatorias. Es necesario realizar estudios futuros sobre la disbiosis provocada por distintos compuestos químicos. Lo anterior con la finalidad de asociar los cambios de la microbiota intestinal o las proporciones de diversos microorganismos con efectos adversos. La disbiosis no es solamente la pérdida de diversidad microbiana. Un cambio drástico de la proporción de los microorganismos es suficiente para tener repercusiones severas en el organismo (Silveira et al., 2018).

A pesar de que los antioxidantes suministrados (cafeína y guaraná) mejoraron la homeostasis redox de las ratas produjeron disbiosis intestinal. Por lo tanto, se debe tener cuidado en su consumo ya que el beneficio del poder antioxidante puede ser menor que el efecto adverso sobre la microbiota. Estudios futuros podrían encontrar la proporción correcta del consumo de antioxidantes similares, para poder obtener una homeostasis redox sin producir disbiosis (Silveira et al., 2018). La disbiosis puede provocar alteraciones del sistema inmune. Entre las consecuencias de las alteraciones al sistema inmune están las enfermedades autoinmunes las cuales se discuten a continuación.

³¹ Macromoléculas de carbohidratos y proteínas sintetizados por bacterias y acumulados de forma extracelular basadas en moléculas de glucosa (no de sacarosa)

7.2. Enfermedades autoinmunes

Una enfermedad autoinmune es una afección en la que el sistema inmune funciona mal, y comienza a atacar al propio cuerpo del individuo. Las enfermedades autoinmunes están controladas por los genes del hospedero y una intervención del ambiente. Los propios órganos del individuo se tornan en los objetivos de ataque del sistema inmune, ya que la especificidad antígeno/anticuerpo se torna afectada. El daño orgánico puede estar mediado por las células *TCD4+*, *TCD8+*, inmunoglobulinas y un mal funcionamiento general del sistema inmune.

Las enfermedades autoinmunes ocurren hasta en un 5% de la población. Entre las más comunes están la diabetes tipo 1, la artritis reumatoide, la esclerosis múltiple, el lupus sistémico eritematoso, la enfermedad inflamatoria intestinal, la enfermedad de Addison, la tiroiditis de Hashimoto, la miastenia grave, la vasculitis autoinmune, la anemia perniciosa, la enfermedad celiaca, la hepatitis autoinmune, etc. (Marrack et al., 2001). Recientemente se ha relacionado a las enfermedades autoinmunes con la microbiota intestinal. Al existir una constante comunicación entre la microbiota con el sistema inmune es probable que el mal funcionamiento del sistema inmune comience desde algún mecanismo provocado por la microbiota. Aunque se desconocen los mecanismos, la literatura científica reciente asocia la diabetes tipo 1, la enfermedad celiaca, la artritis reumatoide, entre otras enfermedades autoinmunes con la disbiosis (McLean et al., 2015).

En ratas de la estirpe Wistar se han estudiado diversas enfermedades autoinmunes graves como la esclerosis múltiple. Esta es una enfermedad crónica neurodegenerativa que conduce a la desmielinización de las fibras nerviosas. La esclerosis múltiple es una de las principales causas de discapacidad no producida por traumas en todo el mundo. Esta enfermedad se caracteriza por episodios de

inflamación, desmielinización de las neuronas y gliosis³². Este padecimiento provoca distintos síntomas como ataxia³³, pérdida sensorial, problemas de visión, falta de equilibrio, debilidad muscular y pérdida neuronal, reduciendo considerablemente la esperanza de vida (Rasool et al., 2022).

La esclerosis múltiple, es causada por lesiones edematosas³⁴, inicialmente provocadas por infiltraciones de células mononucleares, células T auxiliares y macrófagos. Esta infiltración producen inflamación en la materia blanca del cerebro y reduce la integridad estructural de la vaina de mielina. Esta inflamación cerebral puede surgir a partir de inflamaciones sistémicas provenientes de cualquier alteración del sistema inmunológico. El tratamiento de esta patología es una serie de fármacos que solamente detienen parte del progreso de la enfermedad. No obstante, hasta el momento no se ha conseguido una cura o un tratamiento definitivo (Rasool et al., 2022).

En el estudio de Rasool et al. (2022) se provocó a ratas Wistar esclerosis múltiple inyectando durante 3 semanas un lipopolíglicido que producía neurotoxicidad en la región lumbosacra³⁵. Las ratas presentaron síntomas como parálisis parcial de extremidades traseras y cola, letargo y pérdida de masa. Una vez confirmada la neurodegeneración en las ratas, se conformaron 5 grupos experimentales. A 4 de los grupos se les suministraron extractos de *Nepeta hindustana* L., *Vitex negundo* L., *Argemone albiflora* L., respectivamente. Asimismo, al quinto grupo se le suministro nimopidina, el cual es un fármaco empleado en el tratamiento de la esclerosis (Rasool et al., 2022).

El estudio se centró en los diversos cambios fisiológicos mostrados por las ratas Wistar. Los extractos herbales tuvieron resultados similares al fármaco nimopidina. Los extractos herbales mostraron efectos neuroprotectores, presencia de

³² Producción exagerada de células gliales (sustento de células nerviosas) que generan cicatrices en el cerebro

³³ Trastorno motor que impide la coordinación de movimientos voluntarios

³⁴ Lesiones causadas por hinchazones, provocadas a su vez por acumulación anormal de líquido

³⁵ Región de vertebras de la parte baja de la columna

fitoquímicos antiinflamatorios y metabolitos secundarios que indican que ha ocurrido un proceso de desmielinización. Además, se observó una supresión de los marcadores de estrés. La supresión de marcadores de estrés indica reparación del daño molecular y menos daños en el ADN. Lo anterior deja un campo abierto a la investigación para emplear estas hierbas como una alternativa más eficaz que el fármaco (Rasool et al., 2022).

En el estudio realizado Chen et al. (2009) se utilizó cafeína en dosis de 10 y 30 mg/kg para combatir la encefalomiелitis autoinmune experimental (considerada modelo útil de esclerosis múltiple). En ratas Wistar se indujo esta enfermedad al inyectar de forma subcutánea en las almohadillas de los pies un extracto crudo de médula espinal de cobayo y una mezcla con el microorganismo *Bacillus calmette- guerin*. Este microorganismo comúnmente es usado para sobre-estimular el sistema inmune en investigaciones con mamíferos. Los resultados histológicos mostraron que las ratas alimentadas con cafeína en ambas dosis tuvieron una menor migración de células inflamatorias en la corteza cerebral y la médula espinal, así como una disminución del nivel de IFN- γ ³⁶. Las ratas que no consumieron cafeína mostraron desmielinización (Chen et al., 2009).

La cafeína ejerce un papel inmunomodulador, mejorando el equilibrio entre *Th1* y *Th2*, así como la proliferación de linfocitos. La cafeína mostró efectos contra lesiones cerebrales, como la lesión del cerebro isquémico³⁷, este efecto podría proporcionar un amplio espectro de neuro-protección en trastornos neurológicos humanos (Chen et al., 2009).

En el estudio de Noor et al. (2015) se utilizaron semillas de *Nigella sativa* como tratamiento para la encefalomiелitis autoinmune experimental. Se suministró a ratas de estirpe Wistar un extracto de las semillas en dosis de 2.8 g/kg.m.c. De

³⁶ Interferon gama: Tipo específico de citocina cuya función más importante es la activación de macrófagos con capacidad fagocitaria

³⁷ Cerebro con lesiones causadas en general por coágulos sanguíneos, evitando que la sangre fluya en el cerebro y matando células cerebrales en cuestión de minutos

modo similar al ejemplo anterior, las ratas tuvieron una ausencia de la infiltración de células inflamatorias meníngeas en la médula del cerebelo. Los autores mencionan que el compuesto útil de las semillas es la timoquinona, presente en el aceite volátil de la semilla. La timoquinona se ha reportado múltiples veces como un compuesto que suprime el exceso de células inflamatorias. Finalmente, el estudio concluye mencionando la protección que ofrecen las semillas de *N. sativa* en el tratamiento de la encefalomiелitis experimental autoinmune (Noor et al., 2015).

La relación entre la microbiota intestinal y las enfermedades autoinmunes aún no se estudia de manera contundente con información acerca de las causas, mecanismos o posibles tratamientos. Tlaskalová-Hogenová et al. (2011) abordan brevemente la enfermedad celiaca que se desencadena por el gluten de trigo en la dieta para individuos genéticamente susceptibles. Esta enfermedad fue confirmada como autoinmune por el autoantígeno³⁸ llamado transglutaminasa tisular (Tlaskalová-Hogenová et al., 2011).

Los autores mencionan que la barrera mucosa y sus disfunciones están directamente relacionadas con varias enfermedades autoinmunes. Por otra parte, existen bacterias como *E. coli*, que promueven la activación de células inmunitarias y otras como las bifidobacterias que tienen efectos inhibitorios. Por lo anterior, se menciona que los microorganismos de la microbiota intestinal tienen un efecto sobre los malfuncionamientos inmunes (Tlaskalová-Hogenová et al., 2011).

En ratas de estirpe Wistar se ha observado que, al inducir enfermedad celiaca, existe un aumento de los linfocitos intraepiteliales del intestino, hiperplasia³⁹ de las criptas⁴⁰ intestinales y acortamiento de las vellosidades de la mucosa intestinal.

³⁸ Molécula propia del cuerpo del individuo que es reconocida como amenaza y es atacada por el sistema inmune

³⁹ Aumento anormal y excesivo de ciertas células en un tejido

⁴⁰ Invaginaciones del epitelio

Las ratas libres de gérmenes muestran efectos similares a sus homólogas con microbiota, presentando activaciones inmunes anormales ante la enfermedad celiaca (Tlaskalová-Hogenová et al., 2011).

Otra enfermedad autoinmune que se ha relacionado directamente con la microbiota intestinal es la diabetes tipo 1. Esta ocurre espontáneamente en varios mamíferos, lo que hace a las ratas Wistar un modelo animal que puede ser usado para explicar dicha patología. La diabetes tipo 1 tiene como resultado que las células del sistema inmune ataquen a las células β del páncreas (productoras de insulina). Se tiene la hipótesis de que esta enfermedad es desencadenada por factores ambientales, los cuales pueden ser absorbidos por el intestino debido a un problema de permeabilidad intestinal (Neu et al., 2005).

Esta causa fue comprobada por Neu et al. (2005). En este estudio se observó que las ratas Wistar propensas a diabetes mostraban un mayor porcentaje de células calciformes y de la cripta mucosa. Una mayor presencia de células calciformes y de cripta se relaciona con mayor permeabilidad intestinal. Además, las ratas propensas a diabetes tipo 1 expresaron una menor cantidad de proteínas de la unión estrecha, provocando igualmente una mayor permeabilidad intestinal. Una alta permeabilidad intestinal aumentaría la probabilidad de que antígenos ambientales accedan al organismo y desencadenen respuestas inmunes descontroladas, o bien, directamente respuestas autoinmunes (Neu et al., 2005).

Esta teoría es llamada la hipótesis de la “tormenta perfecta” la cual concretamente menciona que un aumento de la permeabilidad intestinal, junto con una alimentación inadecuada, así como antígenos ambientales y microbianos permeando la mucosa intestinal, provocarían una respuesta inmune aberrante, y una sobre-reacción ante proteínas comunes que normalmente serían inofensivas (Neu et al., 2005).

En las ratas Wistar propensas a diabetes tipo 1 se presentó aumento de permeabilidad en el intestino delgado pero no en el colon. Además, estas ratas presentaron una mayor excreción urinaria con una proporción anormal de lactulosa/manitol, antes del inicio de la diabetes. Esto sugiere que la proporción anormal de lactulosa/manitol es un posible indicador de la futura aparición de diabetes tipo 1. La administración de butirato, no muestra mejoras en la fortaleza de la unión estrecha. Lo anterior hace aún más importante la necesidad de evitar que se presente alta permeabilidad intestinal (Hansen et al., 2019; Neu et al., 2005).

7.3. Inmunomodulación con probióticos y prebióticos

En la constante investigación sobre la microbiota intestinal, se ha hablado extensamente de los modos de revertir la disbiosis intestinal mediante el consumo de *Lactobacillus*. Una proporción baja de estas bacterias es una señal de posible disbiosis intestinal en un individuo (Hart et al., 2004).

Existen microorganismos de la microbiota intestinal que tienen efectos inmunomoduladores, concretamente bacterias ácido-lácticas, como propusieron Hart et al. (2004). Estos autores plantearon que el consumo de *Lactobacillus* ayudaba en la disminución de células T citotóxicas y la respuesta de células B, impulsada por *Th1*.

Del mismo modo, Hart et al. (2004) propusieron que *Lactobacillus casei* tiene efecto modulador de las células dendríticas lo cual explica la función correcta de las células T, ya que su producción depende del tipo y grado de maduración de la célula dendrítica. El consumo de estos probióticos podría mostrar una modulación de las células *Th1* y *Th2*. Los probióticos pueden exhibir actividad adyuvante en la defensa inmune, además de mostrar mecanismos antiinflamatorios que previenen reacciones alérgicas (Hart et al., 2004).

Ezendam et al. (2006) realizaron estudios con el consumo de *Lactobacillus casei* Shirota, Durante 8 días suministraron a ratones con *Lactobacillus casei* Shirota. Posteriormente los ratones fueron sacrificados para realizar observaciones en el bazo, el timo y los ganglios linfáticos mesentéricos. Los resultados mostraron que los órganos de los ratones que consumieron *Lactobacillus* perdieron algo de masa. Sin embargo, esta pérdida no fue estadísticamente significativa. La única excepción fue el bazo. Este órgano presentó un aumento ligero. Este cambio pudo deberse al aumento de la producción de células. Los efectos inmunomoduladores del consumo de *Lactobacillus casei* Shirota en ratones fueron muy sutiles. La posible explicación es que los efectos de modulación dependen del estado inmune de las ratas. Los efectos positivos inmunomoduladores causados por *Lactobacillus casei* se aprecian mejor en individuos que están teniendo un desequilibrio *Th1/Th2* y no en ratas sanas (Ezendam et al., 2006).

Otros problemas de salud en ratas Wistar muestran efectos más significativos al consumir probióticos como se observó en el estudio de Messori et al. (2013). En este estudio se alimentaron a ratas Wistar con probióticos (*Bacillus subtilis*) durante 44 días. A estas ratas se les indujo periodontitis mediante una ligadura de algodón en los dientes. Esta enfermedad es una infección en las encías, la cual daña el tejido blando y destruye el hueso que sostiene los dientes. Tras el consumo de 30 días de *Bacillus subtilis* se observó que las ratas con periodontitis redujeron su pérdida ósea (contra un control con periodontitis sin consumo de probióticos). Se cree que lo anterior es debido a la reducción de algunas citocinas proinflamatorias, activación de macrófagos y *natural killers*, estimulación de producción de glóbulos blancos y estimulación de células dendríticas (presentadoras de antígenos). Este tipo de respuesta de modulación reacciona de modo similar al de la infección de las encías, pero sin generar la destrucción periodontal, siendo un efecto benéfico en la modulación inmune (Messori et al., 2013).

Además, este estudio confirmó que la periodontitis afecta la estructura intestinal, por lo que, en conjunto con las respuestas inflamatorias, generan aún más evidencia de la respuesta inmunomoduladora de los probióticos. Una posible explicación es que el consumo de probióticos mejora la microbiota intestinal, desplazando microorganismos patógenos y por consiguiente limitando la respuesta inmune del intestino, consiguiendo una modulación benéfica en las enfermedades en las que la inflamación sistémica se vuelve un problema (Messora et al., 2013).

Delgado-Venegas (2018) probó 2 cepas de *Lactobacillus lactis*, una cepa silvestre y una cepa recombinante⁴¹ (que secreta IL-22⁴² con el fin de expresar mayormente el receptor de IL-22 en el intestino) en un modelo de fibrosis hepática⁴³ de ratas Wistar. Esta fibrosis fue inducida con CCl₄ y se utilizó el probiótico como un tratamiento preventivo. Como resultado se observó que ambas cepas disminuyeron el daño en el hígado ocasionado por la fibrosis hepática, pero sin una recuperación completa, aunque con una mejora considerable del parénquima⁴⁴. También se observó la disminución de los niveles de expresión de la citocina proinflamatoria *IL-1β*, la citocina fibrogénica *TGF-β* y el colágeno a nivel hepático. Estas observaciones fueron realizadas mediante estudios histológicos. Todos estos resultados muestran que el consumo de probióticos (*Lactobacillus lactis*) tiene efecto inmunomodulador en modelos animales con una enfermedad proinflamatoria.

La *IL-22* es una interleucina producida principalmente por células *T* activadas y células *NK*, y se crea como una reacción defensiva a infecciones o lesiones causadas por agentes químicos o físicos. La cepa recombinante al producir *IL-22*

⁴¹ Cepa bacteriana con ADN externo añadido con el fin de otorgarle una nueva capacidad de expresión genética

⁴² Interleucina 22

⁴³ Enfermedad que genera una cicatrización en el tejido del hígado, generando un flujo sanguíneo reducido y la pérdida de la función tisular del mismo

⁴⁴ Término histológico que hace referencia a las células esenciales de un órgano, en este caso el hígado

brinda una protección extra a tejidos epiteliales como los de pulmón, intestino, hígado, etc. (Delgado-Venegas, 2018).

También se ha estudiado el efecto de los probióticos efecto sobre la estimulación del sistema inmune en los casos en los que este se encuentra suprimido en algún grado (Delgado-Venegas, 2018).

Ruiz-Iglesias et al. (2020) detallaron los cambios que el ejercicio agotador puede presentar en ratas de estirpe Wistar a mediano plazo. Los autores mencionan que el ejercicio agotador altera funciones inmunológicas y gastrointestinales, especialmente las asociadas al tejido linfoide asociado con mucosas. Esto se observó en ratas Wistar que fueron sometidas a un entrenamiento de alta intensidad (corriendo en una cinta rodante) durante 5 días a la semana, por 5 semanas. Los días Lunes y Viernes, las ratas corrían durante 15 minutos a una velocidad de 60% de la máxima alcanzada durante la prueba de la semana anterior, los días Martes, Miércoles y Jueves, corrían 20, 25 y 30 minutos al 60% de la velocidad máxima alcanzada durante la prueba de la semana anterior. El primer día se inició corriendo por 15 minutos a una velocidad de 30 metros por minuto y se aumentó la velocidad hasta alcanzar el agotamiento. Estas pruebas se realizaron con la intención de emular un ejercicio físico intenso en humanos, imitando entrenamientos de atletas de alto rendimiento que buscan de forma crónica llegar al fallo muscular (Ruiz-Iglesias et al., 2020).

Las ratas que realizaron ejercicios extenuantes mostraron un cuerpo más largo, un aumento de masa magra y un menor consumo de alimento. Lo anterior indica una mayor eficiencia alimentaria que los animales sedentarios (control). Se monitoreó el tejido linfoide asociado con mucosas mediante los niveles de secreción de IgA. Se observó un descenso de IgA en todo el tejido de la glándula salival submaxilar (Ruiz-Iglesias et al., 2020).

El estudio mostró un deterioro de la expresión de algunas proteínas de la unión estrecha⁴⁵, lo cual puede explicar el aumento de la permeabilidad intestinal.

⁴⁵ Componentes de las uniones célula-célula que forman una barrera

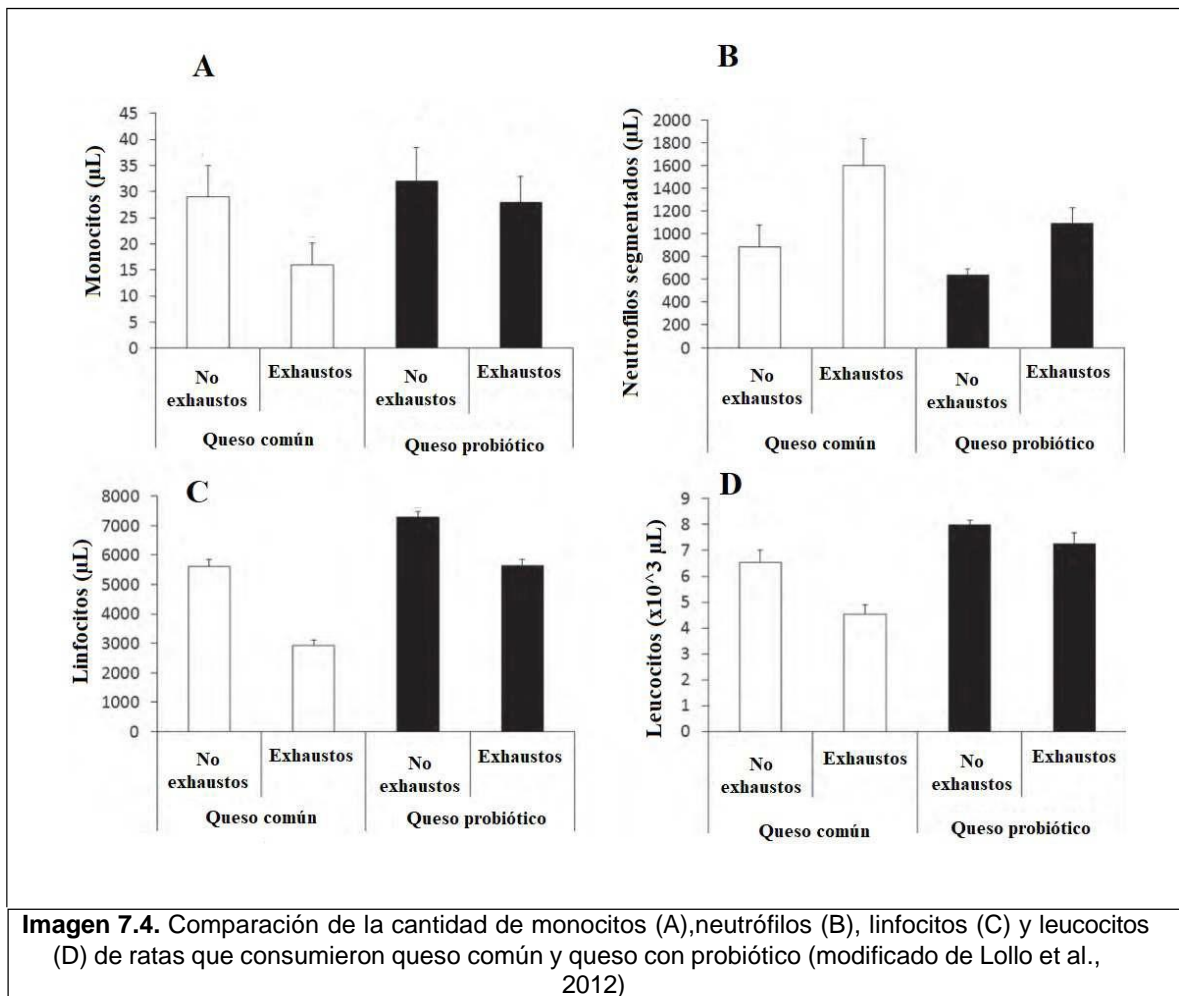
También se observaron modificaciones en las secreciones del ganglio linfático mesentérico mostrando modificaciones en la función y composición de los linfocitos, reduciendo su capacidad de proliferación y potenciando la secreción de interferón- γ . Esto muestra que el ejercicio intenso aún sin agotamiento altera el tejido

linfoide asociado con el intestino, la mucosa y la barrera epitelial del intestino (Ruiz-Iglesias et al., 2020).

Lollo et al. (2012) estudiaron el efecto del consumo de probióticos sobre los efectos ocasionados del ejercicio físico intenso, empleando ratas Wistar. 21 ratas Wistar macho fueron distribuidas en 4 grupos. En 2 de ellos no se administró probiótico y en 2 sí, durante 14 días. Posteriormente un grupo sin probiótico y con probióticos fueron sometidos a ejercicio físico intenso durante 2 horas los otros dos grupos (uno con y otro sin probióticos) no fueron sometidos al ejercicio extenuante. El ejercicio intenso da como resultado un aumento en el estrés, que provoca inmunosupresión en atletas (Lollo et al., 2012).

El grupo con probióticos consumió un queso brasileño que contiene *Lactobacillus acidophilus* LA14 y *Bifidobacterium longum* BL05. En contraste, el grupo sin probióticos consumió un queso que no contenía las bacterias previamente mencionadas. Tras el agotamiento físico las ratas tuvieron una eutanasia humanitaria y se midieron diversos metabolitos en sangre, así como la cantidad de monocitos, linfocitos, recuentos de neutrófilos y leucocitos. El resultado de estas mediciones tras el ejercicio exhaustivo fue una disminución significativa en los recuentos de monocitos en las ratas que no consumieron queso probiótico. En las ratas que consumieron queso con probióticos hubo una disminución menor (22 contra 48% que consumió queso común) (Lollo et al., 2012).

La disminución de neutrófilos y la elevación de linfocitos es una relación que se ha propuesto como un indicador rápido de estrés, tensión y estado inflamatorio. En este estudio las ratas alimentadas con queso con probióticos y que hicieron ejercicio tienen una proporción de neutrófilos/linfocitos 2.2 veces mayor en comparación con el grupo que no hizo ejercicio. mientras que las ratas alimentadas con queso común y que hicieron ejercicio tuvieron una proporción 3.5 veces mayor, ver Imagen 7.4. Lo deseable es que la proporción de neutrófilos/linfocitos sea baja ya que una proporción elevada indica estrés. Por lo tanto la ingestión de probióticos fue capaz de aumentar los niveles de antioxidantes del plasma, neutralizando especies reactivas de oxígeno. Además los probióticos generan inmunomodulación con el sistema inmune gastrointestinal (Lollo et al., 2012).



La idea principal del consumo de prebióticos es promover el crecimiento de la proporción de microorganismos benéficos dentro de la microbiota intestinal, es decir, no se trata del consumo de probióticos sino del consumo de componentes alimentarios que favorecen el crecimiento natural de los probióticos (Addou et al., 2015).

Addou et al. (2015) alimentaron ratas Wistar durante 14 días con solución salina como control y con solución de oligoglúcidos. Al observar las poblaciones bacterianas de las heces se apreció un crecimiento de bacterias ácido-lácticas y

bifidobacterias (productores de ácidos grasos de cadena corta) en el intestino de las ratas Wistar. Lo anterior permite concluir que los prebióticos (en este caso oligoglúcidos), estimulan la proliferación selectiva de microorganismos benéficos para la fisiología del hospedero (Addou et al., 2015).

En otro estudio Di Primio et al. (2021) evaluó oligoglúcidos de galactosa y fructosa. Este estudio indicó que las ratas Wistar que consumieron durante una semana la mezcla de ambos oligoglúcidos, mostraron un aumento significativo de *Lactobacillus* en comparación con las ratas que no consumieron los oligoglúcidos. El consumo de estos prebióticos generó un efecto inmunomodulador similar al del consumo de probióticos.

Asimismo, se observó un efecto secundario y benéfico del consumo de esta mezcla de oligoglúcidos. Este efecto secundario fue que las ratas que consumieron los prebióticos tuvieron una mayor fijación de calcio, fósforo y magnesio en su fémur sin tener suplementación de estos minerales. Es decir, el consumo de prebióticos provocó una mayor absorción de los minerales a partir de la misma dieta. Este efecto se ha explicado por el descenso del pH intestinal debido a la bioconversión de oligoglúcidos (generando ácidos grasos de cadena corta), ionizando los minerales y solubilizándolos. Al estar solubles los minerales se vuelven más biodisponibles generando un doble beneficio del consumo de esta mezcla de oligoglúcidos (Di Primio et al., 2021)

El consumo en conjunto de probióticos y prebióticos también presenta un efecto inmunomodulador, como en el caso de la combinación de *Lactobacillus rhamnosus* con glicomacropéptidos⁴⁶. Esta molécula estimula selectivamente el crecimiento de microorganismos benéficos, además de su comprobada actividad antibacteriana contra microorganismos no deseados en el intestino, como lo son *E. coli* enteropatógena y *Salmonella typhimurium*. El glicomacropéptido limita la

⁴⁶ Péptido bioactivo lácteo derivado de la hidrólisis de la k-caseína por acción de la quimosina o pepsina, al cual se le han atribuido efectos antiinflamatorios, prebióticos e inmunomoduladores tras su consumo.

adherencia de las bacterias patógenas a la mucosa intestinal animal y con esto disminuye su crecimiento en el intestino. En este estudio se indujo alergia intestinal empleando alérgenos para sensibilizar a ratas Wistar. Las ratas mostraron síntomas como inflamación intestinal y modificaciones histopatológicas en el intestino. Después de inducir la alergia se les suministró glicomacropéptidos. La administración de esta molécula logró atenuar la respuesta alérgica mediada por inmunoglobulinas IgE. Además, se logró disminuir la inflamación intestinal y las alteraciones histopatológicas. Esto es evidencia de una disminución de células proinflamatorias y citocinas características de una reacción alérgica intestinal. Por su parte, el consumo de glicomacropéptidos en conjunto con *Lactobacillus rhamnosus*, no mostró efectos significativamente diferentes a los observados en el consumo individual del prebiótico. Por ello se consideraron, de acuerdo con los resultados, que es más eficiente tratar la alergia intestinal únicamente con glicomacropéptido (Reyes-Pavón, 2020).

7.4 Repercusión de la dieta en enfermedades como obesidad, cáncer, descalcificaciones e inflamación intestinal

La microbiota intestinal influye en la homeostasis energética de los individuos, por lo que puede afectar directamente el desarrollo de obesidad y trastornos metabólicos como la resistencia a la insulina y la diabetes. De igual modo, la microbiota puede regular algunos genes del hospedador que controlan procesos metabólicos. La microbiota intestinal al regular algunos genes de procesos metabólicos altera el fenotipo del hospedador. De este modo los microorganismos pueden hacer que el hospedador presente obesidad y alterar, en cierto grado, la motilidad intestinal (Hernandez-Baixauli et al., 2021).

Algunos microorganismos se relacionan particularmente con el metabolismo de carbohidratos. Estos microorganismos consiguen energía extra de la dieta ya que metabolizan sustratos no digeribles por el hospedador. Muchas bacterias intestinales regulan la secreción de péptidos intestinales. Como consecuencia de

la secreción de estos péptidos intestinales ocurre una alteración del tejido adiposo y la composición de los ácidos grasos. Incluso, algunos microorganismos activan respuestas inflamatorias mediante la secreción de lipopoliglúcidos⁴⁷ (Khare et al., 2020; Li, 2014).

En la sociedad occidental la obesidad tiene una constante tendencia al alza, producto de la dieta que consume y otros factores. En la actualidad se ha buscado relacionar la microbiota intestinal con el tipo de dieta y con el desarrollo de la obesidad. Se ha reportado una baja proporción de bacterias pertenecientes al filo *Bacteroidetes* y poca diversidad bacteriana en individuos obesos en comparación con individuos con masas corporales normales (Gual-Grau, 2019).

Cotillard et al. (2013) describieron la riqueza bacteriana en el intestino como una medida de la salud de un individuo (midiendo la cantidad de genes bacterianos). Los autores encontraron una relación entre la obesidad y la resistencia a la insulina con bacterias pertenecientes a géneros proinflamatorios como *Bacteroides* y *Parabacteroides*. Los individuos con una baja diversidad bacteriana presentaron una desregulación metabólica más pronunciada, acompañada de inflamaciones sistémicas leves. Los ácidos grasos de cadena corta son marcadores bacterianos de estado saludable ya que son producidos por microorganismos como *Lactobacillus*. La abundancia de *Lactobacillus* es considerada un indicador de salud de la microbiota intestinal. Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) son los productos finales de la degradación de algunos carbohidratos. Estos ácidos grasos de cadena corta pueden ejercer múltiples efectos benéficos sobre el metabolismo de los mamíferos, tal como se muestra en la Imagen 7.5. Por tanto, la composición de la microbiota es un determinante clave para una producción equilibrada de AGCC. Por el contrario, las personas obesas no tienen una producción favorable de AGCC, sino una generación alta de propionato. La producción de AGCC se favorece cuando los sustratos que los producen son expuestos a una microbiota saludable (Gual-Grau, 2019).

⁴⁷ No son derivados de la sacarosa sino de la glucosa

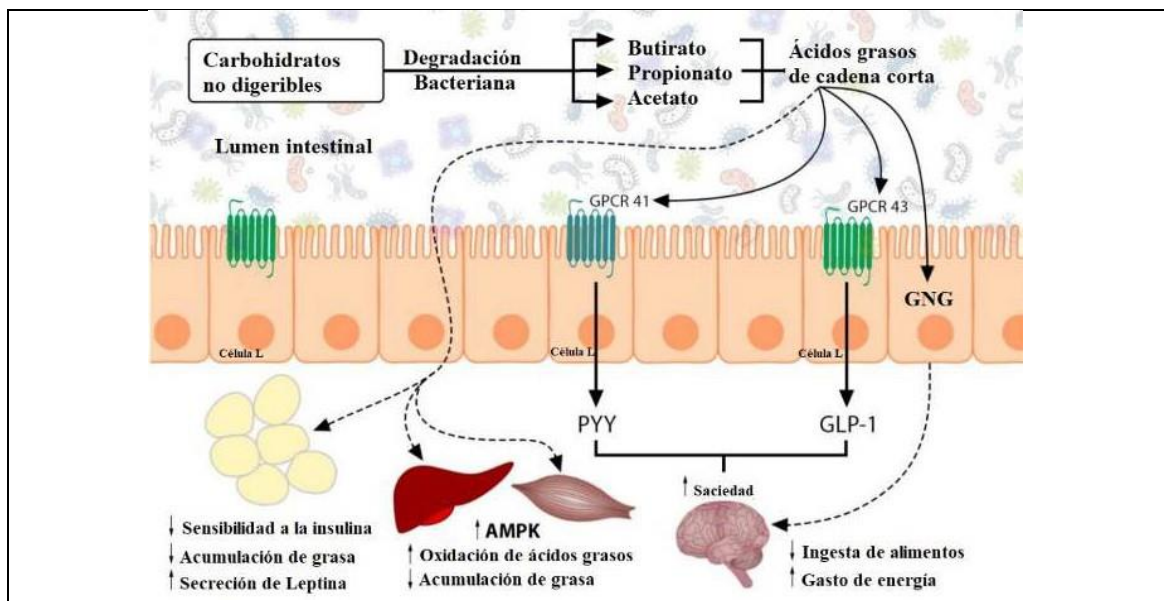


Imagen 7.5. Generación de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) por degradación bacteriana de carbohidratos no digeribles, su reconocimiento en (GPR41 y GPR43⁴⁸) así como su traslado a células del intestino para la formación de gluconeogénesis⁴⁹ (GNG) y su traslado a células L⁵⁰, productoras de PYY⁵¹ y GLP-1⁵², (sensación de saciedad en el cerebro). Del mismo modo, los AGCC inducen aumento de AMPK⁵³ y oxidación de ácidos grasos en el hígado, así como secreción de leptina (modificada de Gual-Grau, 2019)

Para comprobar la influencia de la dieta sobre el aumento de masa y la obesidad, se utiliza comúnmente una dieta llamada dieta de cafetería. Esta dieta consiste en una elección libre de alimentos representativos de la dieta occidental ricos en alta energía, como tocino, pan, café, papas fritas, hamburguesas, etc. La dieta de cafetería comúnmente se asocia con la hiperfagia, debido a una falta de sensación de saciedad. Esta hiperfagia conduce al desarrollo de obesidad y otras enfermedades como la hipertensión o la diabetes. Del mismo modo, existen dietas como la alta en grasa y la alta en grasa y sacarosa, con alta cantidad de energía.

⁴⁸ Receptores celulares que captan los AGCC

⁴⁹ El proceso de obtención de glucosa a partir de los propios productos de descomposición o de los productos de descomposición de los lípidos (grasas) o las proteínas

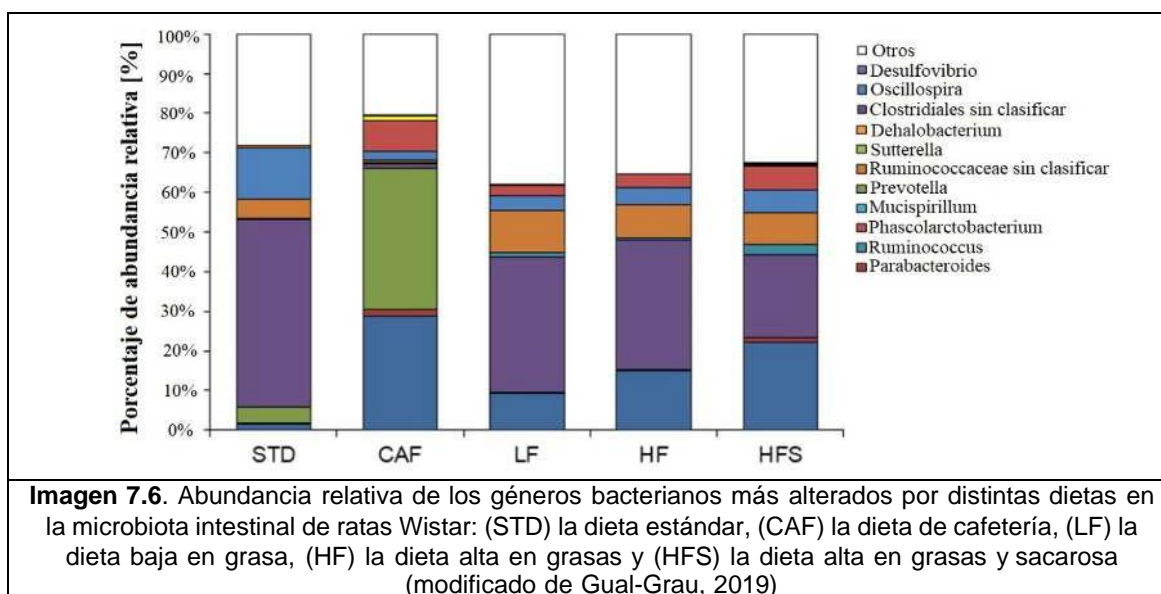
⁵⁰ Tipo de células secretoras específicas del intestino delgado distal y colon

⁵¹ El péptido PYY es una señal hormonal que participa como una señalización de la cantidad de adiposidad y sobre la ingesta en el organismo

⁵² Señal hormonal que ayuda a controlar la función del páncreas, haciendo que se produzca más insulina después de las comidas, manteniendo los niveles de glucosa en intervalos saludables

⁵³ Quinasa activada por AMP es un complejo enzimático dependiente de proporciones de ATP y AMP, el cual ayuda a “apagar” rutas metabólicas que gastan ATP y consumen AMP, permitiendo la conservación de energía en forma de ATP

La ingesta de dietas de cafetería, la dieta alta en grasa y la dieta alta en grasa y sacarosa, influyen de modos distintos en la microbiota intestinal de las ratas Wistar, como se muestra en la Imagen 7.6. La dieta de cafetería promueve una disbiosis severa intestinal y altera el metabolismo de los ácidos biliares, así como la producción de ácidos grasos de cadena corta. Esto desencadena un aumento de orina y excreción de toxinas urémicas⁵⁴. Además, aumenta la excreción de metabolitos asociados con estrés oxidativo e inflamación sistémica. Por el contrario, las dietas a base de alimentos ricos en fibra dan como resultado fenotipos mucho más saludables, con una modesta acumulación de grasa corporal y sin promover cambios en el microbioma intestinal ni en sistemas metabólicos urinarios (Gual-Grau, 2019).


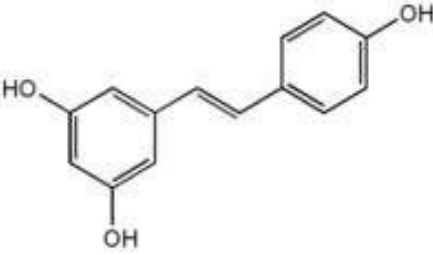


Las ratas Wistar son más susceptibles a presentar alteraciones de la microbiota intestinal que otros tipos de ratas. Se ha observado que la dieta de cafetería altera la proporción de bacterias del género *Lactobacillus*, reduciendo su abundancia de una manera importante. En ratas Wistar, se han probado distintas dietas con el fin de obtener dietas que se consideren como saludables en relación con la

⁵⁴ Se define como toxinas urémicas a aquéllas que resultan de la retención renal en la Enfermedad Renal Crónica (ERC) y que contribuyen al deterioro de múltiples funciones bioquímicas y fisiológicas, lo que se define como *Síndrome Urémico*

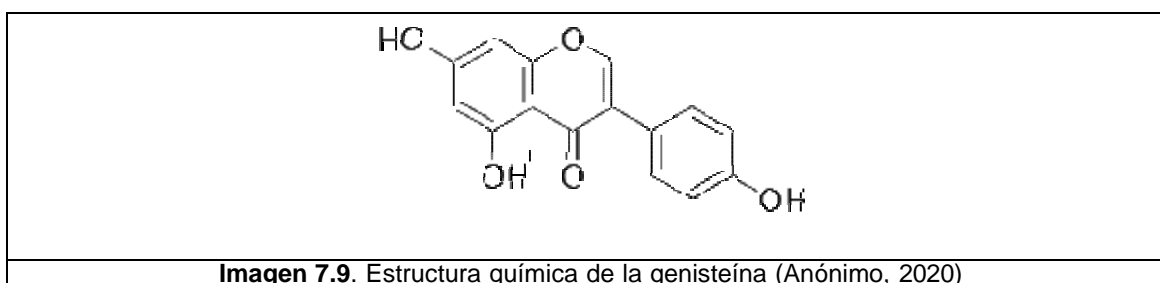
microbiota intestinal. La suplementación con proantocianidinas ha mostrado que se contrarresta el incremento de la relación de *Bacteroidetes/Firmicutes*. Algunos alimentos ‘fermentados’, como la piel de calabaza fermentada o la malta utilizada para la elaboración de cerveza actúan como prebióticos naturales, disminuyendo el pH, produciendo gas y ácidos grasos de cadena corta. Estas condiciones generan perfiles metabólicos saludables (Gual-Grau, 2019).

La ingesta de quercetina y resveratrol (Imágenes 7.7 y 7.8) también ha demostrado ser benéfica en la disminución de masa corporal limitando la inflamación producida en ratas de la estirpe Wistar con obesidad inducida en dietas altas en grasas. La inclusión de quercetina y resveratrol en la dieta provoca la disminución de abundancia de bacterias del filo *Firmicutes*. La disminución de la abundancia de bacterias del filo *Firmicutes* altera la cantidad de energía absorbida de la dieta. La ingesta de quercetina y el resveratrol causaron cambios drásticos en la abundancia de familias microbianas. Estos compuestos redujeron notablemente la cantidad de bacterias pertenecientes a familias bacterianas relacionadas con la obesidad, tales como *Lachnospiraceae*, *Desulfovibrionaceae*, *Acidaminococcaceae*, *Coriobacteriaceae* y bacterias del género *Bilophila*. Asimismo, mejoraron la abundancia relativa de otros géneros bacterianos de la microbiota intestinal (Zhao et al., 2017).

<p>QUERCETINA</p> 		
<p>Imagen 7.7. Estructura química de la quercetina (Anónimo, 2010)</p>		<p>Imagen 7.8. Estructura química del resveratrol (Anónimo, 2022f)</p>

Se ha intentado asociar el cáncer con el tipo de dieta consumida en diferentes poblaciones. Por ejemplo, se ha comprobado que hombres asiáticos con una dieta

abundante en soya tienen una incidencia mucho menor de cáncer de próstata, comparados contra los hombres europeos o estadounidenses. Sin embargo, los hombres asiáticos al migrar a distintas naciones pierden dicha protección, planteando la hipótesis de que probablemente exista algo más que la genética influyendo sobre estos casos (Cook et al., 1999). En ratas macho de la estirpe Wistar se provocó carcinogénesis en próstata con el fin de estudiar la relación entre el consumo de genisteína y cáncer de próstata. Para ello los autores suministraron genisteína (Imagen 7.9) a dosis de 250 mg/kg de masa corporal durante 11 meses. Los autores concluyeron que las ratas con genisteína incluida en su dieta presentaron una mayor protección contra el cáncer de próstata. Además, no se observó toxicidad ni aumento de masa en los testículos ni en la próstata. Se cree que la genisteína inhibe una ruta enzimática de proliferación celular mediada por estrógenos que provoca el cáncer. La genisteína al inhibir esa ruta metabólica inhibe el desarrollo de cáncer de próstata. Además, la genisteína no provoca toxicidad en la descendencia. La concentración de genisteína resultante en el suero sanguíneo de las ratas macho de la estirpe Wistar fue similar a la encontrada en hombres asiáticos adultos (Wang et al., 2001).



La relación entre la calcificación de los huesos y la microbiota intestinal es otro ejemplo de los efectos en el organismo de la microbiota intestinal en conjunto con la dieta. La vitamina K se produce mediante la microbiota intestinal (principalmente mediante bacterias pertenecientes a los géneros *Bacteroides* y *Bifidobacterias*). Esta vitamina se ve involucrada en procesos de calcificación de los huesos, activando proteínas que regulan la fijación del calcio en ellos. En ratas Wistar hembra se ha demostrado que la vitamina K puede reducir la pérdida progresiva

del volumen del hueso vertebral. Sin embargo, no puede detener la pérdida de calcio una vez que ha comenzado a difundirse por los huesos. En la osteopenia⁵⁵, la vitamina K mejora la mineralización del hueso al mejorar la síntesis de osteocalcina⁵⁶ y mejorando las propiedades estructurales de la columna vertebral. Es por ello que la descalcificación, así como una buena salud estructural de los huesos, dependen no solamente de la dieta sino también de la regulación de la microbiota intestinal. Lo anterior es debido a que la microbiota produce los cofactores necesarios para poder utilizar a los minerales, ya que uno, sin el otro resulta totalmente irrelevante (Xin et al., 2001).

7.5. Medicina preventiva relacionada con la microbiota intestinal

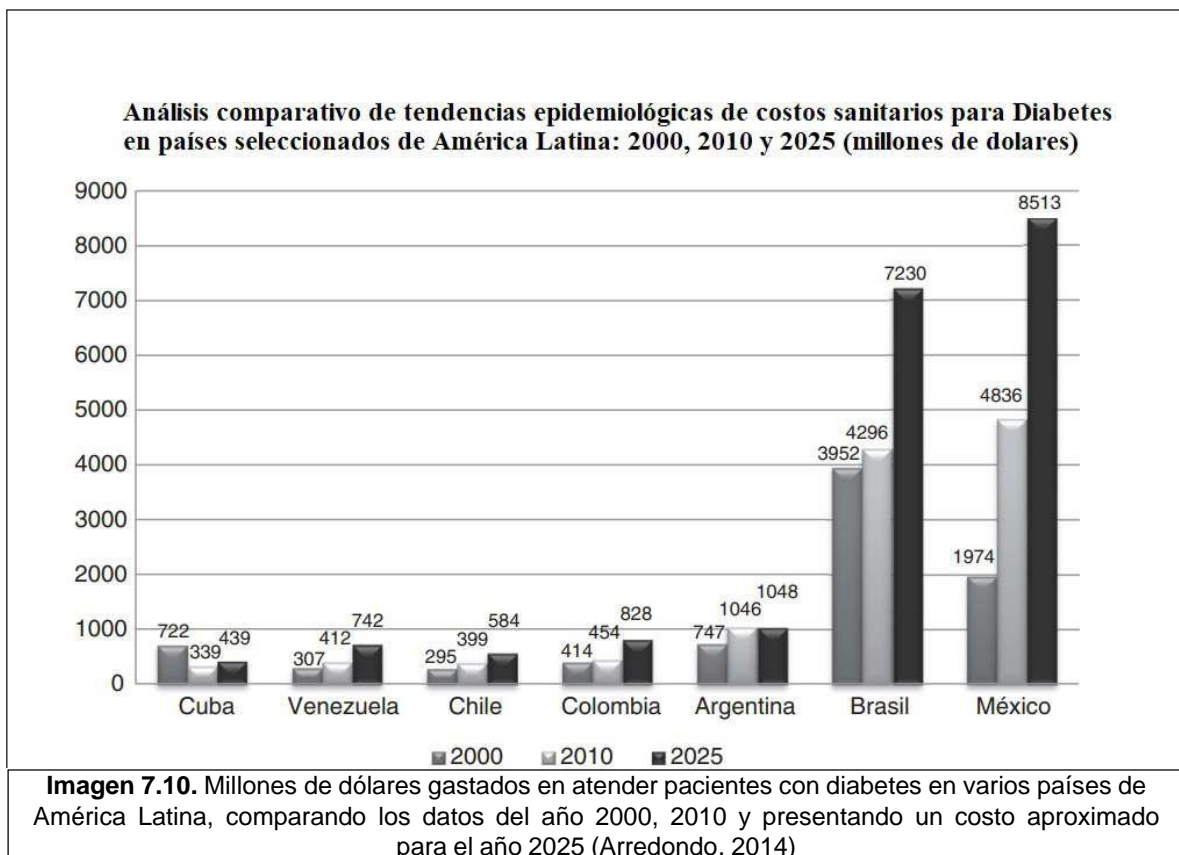
Al aumentar la esperanza de vida las enfermedades crónicas se vuelven las principales causas de muerte. De acuerdo con las estadísticas estas enfermedades representan hasta el 60% de todas las muertes mundiales. Desafortunadamente, la atención médica se centra comúnmente en el tratamiento de la enfermedad en lugar de su prevención. El uso de la medicina preventiva podría reducir la tasa de mortalidad y extender aún más la esperanza de vida. Los recursos financieros destinados a las medidas preventivas no son suficientes. El prevenir enfermedades en lugar de tratarlas tendría como consecuencia ahorros económicos significativos y una mayor tasa de éxito en la recuperación de los pacientes. Los economistas concluyen que la medicina preventiva en complemento de la medicina curativa genera una mayor eficiencia de recursos y puede aumentar las reservas de los servicios de salud de cualquier país, permitiendo un efecto recíproco y aumentando el desarrollo general (Wang, 2018). Enfermedades como el asma o la diabetes requieren de tratamientos curativos personalizados, una evaluación médica periódica y proporción constante de medicamentos y cuidados. La medicina preventiva puede evitar consumir recursos

⁵⁵ Forma de pérdida ósea menos grave que la osteoporosis, caracterizada por pérdida de densidad mineral ósea o presencia de densidad ósea menor a la considerada normal

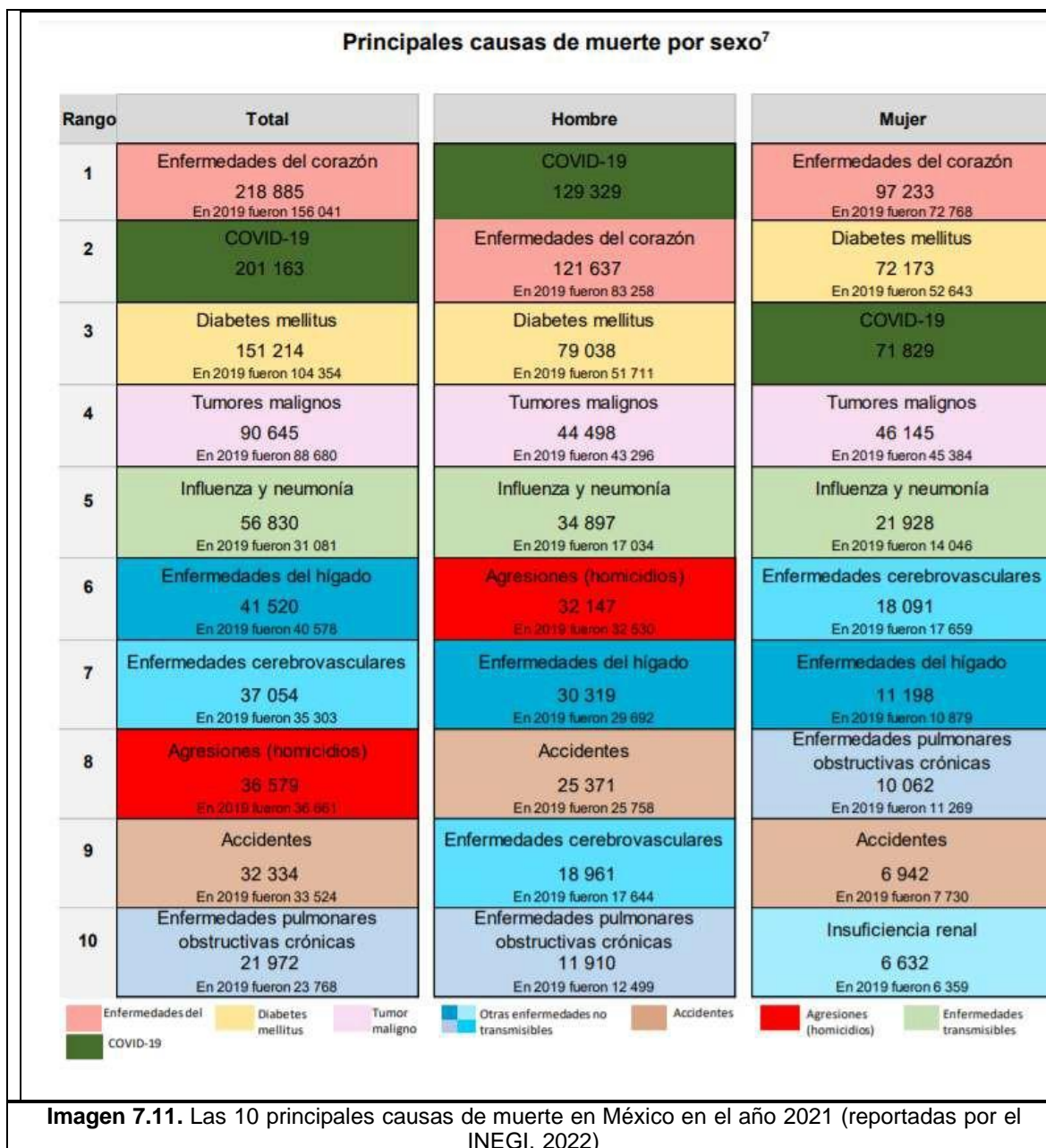
⁵⁶ Proteína no colágena cuya función es la fijación de calcio en los huesos, es dependiente de la vitamina K y es estimulada por la vitamina D3

extras individuales. Además, la medicina preventiva puede aplicarse en las enfermedades que dependen de diversos factores tanto ambientales, genéticos, relacionados con la alimentación, infecciones, etc. (Guilleminault et al., 2017).

En la gran mayoría de los países de América Latina, principalmente en México, Chile, Argentina y Brasil, existe un aumento acelerado de enfermedades crónicas como la diabetes e hipertensión. La diabetes tipo 2, en términos económicos representa una pesada carga económica para los sistemas de salud. Además, la diabetes provoca una mortalidad temprana. Los gastos que ocasiona la diabetes han mostrado un creciente aumento de los costos sanitarios como se muestra en la imagen 7.10. Además, existen poblaciones vulnerables que están fuera del alcance de los sistemas de salud, por lo que se estima que aún con el creciente gasto destinado a tratar esta enfermedad están sobrepasadas las estrategias del sector salud (Arredondo, 2014).

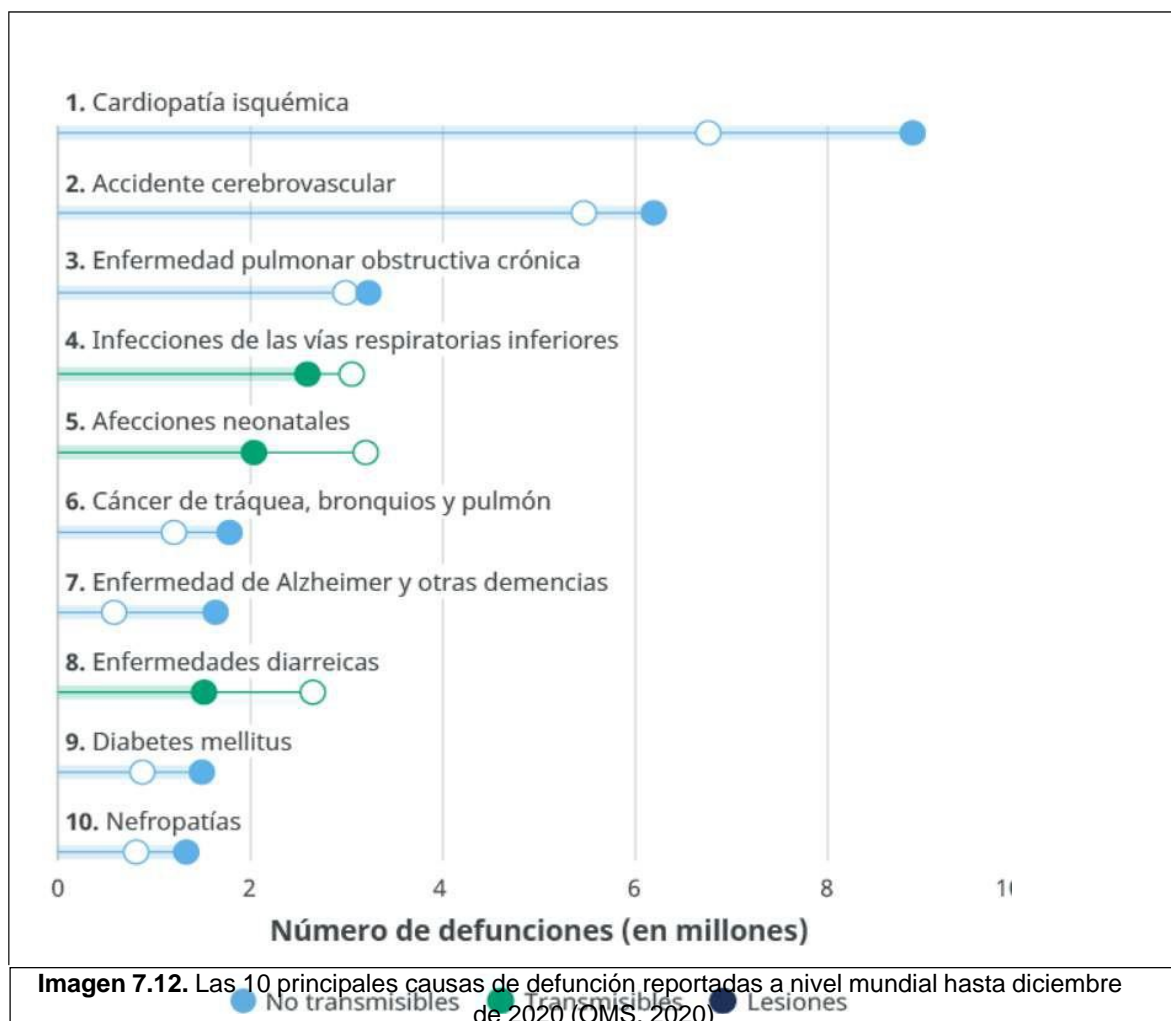


En México las principales causas de muerte son: Enfermedades cardíacas, diabetes mellitus y tumores malignos (Imagen 7.11).



A nivel mundial las principales causas de muerte son: Cardiopatía isquémica, accidente cerebro-vascular y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Imagen

7.12). Estas enfermedades tienen una fuerte repercusión en el desarrollo económico del país. Por lo tanto, es necesario reflexionar sobre la importancia de la prevención de estas enfermedades. Entre las estrategias para la prevención de enfermedades se deben tomar en cuenta las relaciones encontradas entre la microbiota intestinal y el desarrollo de diversas enfermedades (Arredondo, 2014; INEGI, 2022).



La microbiota intestinal puede proveer un nuevo camino en la medicina preventiva. La medicina preventiva basada en la microbiota podría reducir el número de defunciones por año, o ser utilizada para tratar enfermedades empleando menos recursos económicos que los tratamientos convencionales. El ahorro en recursos

económicos podría hacer que se destinen mayor presupuesto del sector salud para tratar enfermedades cuyo único tratamiento es la medicina curativa. Sin embargo, se necesita una comprensión exhaustiva de la complejidad de la microbiota intestinal y las relaciones con las enfermedades. Actualmente, no existe un perfil único de microbiota considerado como saludable, ya que la microbiota tiene una diversidad dinámica. Además, las diferencias propias de cada individuo afectan la composición de la microbiota.

Existe evidencia que indica el papel terapéutico de suplementos dietéticos y sus efectos en la salud mediados por la microbiota intestinal. Constantemente se realizan estudios sobre trasplante de materia fecal, probióticos y prebióticos, así como de microorganismos específicos que se consideran nocivos. Sin embargo, aún faltan muchos pasos de investigación para poder modificar la microbiota intestinal de manera considerable y segura (Nagpal et al., 2014).

El trasplante de materia fecal puede tener riesgos significativos al trasplantar patógenos entre personas, con la posibilidad de que no se encuentren expresados en la persona donadora, pero que lo hagan en la persona receptora por alguna situación de inmunodeficiencia. Por otro lado, los productos probióticos en muchos países no tienen suficientes términos de calidad y seguridad alimentaria (Paule et al., 2018). Lo descrito anteriormente son limitaciones del uso de la microbiota como tratamiento.

Una alternativa, al trasplante de materia fecal y el uso de probióticos, es el uso de bacteriófagos⁵⁷. Los bacteriófagos han sido empleados como una solución de la resistencia bacteriana a antibióticos. Estos bacteriófagos podrían utilizarse como moduladores artificiales de la microbiota intestinal. Estos virus podrían ser “entrenados” para atacar específicamente a microorganismos patógenos o bien, reducir la población de ciertas bacterias no deseadas con el fin de modular y reestructurar la microbiota (Paule et al., 2018).

⁵⁷ Virus específicos que infectan bacterias

7.6. Síntesis de los avances científicos de algunas enfermedades relacionadas con la microbiota

A continuación, en la Tabla 5 se muestran ejemplos de algunas enfermedades en las que se ha encontrado que existe una relación con la microbiota intestinal. Sin embargo, debe considerarse que existen muchas otras enfermedades y afecciones que hoy en día se estudian y se sospecha cada vez más que están relacionadas con la microbiota intestinal.

Tabla 5. Ejemplos de algunas de las enfermedades relacionadas con la microbiota intestinal

Enfermedad	Definición	Avances de investigación
Parkinson / Sarcopenia	Enfermedad caracterizada por la pérdida de masa muscular, fuerza y funcionamiento de los músculos, provocando falta de movilidad e invalidez (Instituto Nacional del Cáncer, s.f.)	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de inflamación intestinal (disbiosis) en personas con Parkinson de edad avanzada (Bordoni, et al., 2019; Castillo-Álvarez y Marzo-Sola, 2019) • Eje intestino-cerebro como principal clave de comprensión de la enfermedad (Castillo-Álvarez y Marzo-Sola, 2019) • Investigaciones en ratones muestran bacterias intestinales relacionadas con las regulaciones bioquímicas de acumulación de α- sinucleína⁵⁸ (depósitos que indican disfunción neuronal y muerte) (Man et al., 2021) • Pacientes muestran microbiota distinta a la normal: Aumento de <i>Ralstonia spp</i> (proteobacteria inflamatoria) • Disminución de <i>Blautia spp.</i>, <i>Coprococcus spp.</i> y <i>Roseburia spp</i> (productoras de AGCC) • Asociación del uso de permetrina (insecticida que provoca Parkinson) con enfermedad inflamatoria intestinal (Bordoni et al., 2019; Man et al., 2021)

⁵⁸ Proteína neuronal expresada comúnmente en las terminaciones nerviosas y presinápticas del cerebro

Enfermedad	Definición	Avances de investigación
Miocardiopatía isquémica	<p>Estrechamiento de arterias que llevan sangre al corazón, provocando paredes de arterias delgadas.</p> <p>También se explica como una arterioesclerosis crónica, favoreciendo formación de trombos e infartos agudos del miocardio (McCafferty et al., 2012)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Se ha demostrado que la alteración en la microbiota intestinal con vancomicina reduce los niveles de leptina⁵⁹, hormona cuyos receptores están presentes en los riñones y en el miocardio (McCafferty et al., 2012) • Cambios significativos en la microbiota durante el periodo isquémico e infarto: aumento de bacterias de los géneros y filos <i>Synergistetes</i>, <i>Espiroquetas</i>, <i>Lachnospiraceae</i>, <i>Syntrophomonadaceae</i>, <i>Eubacteriaceae</i>, <i>Dethiosulfovibrionaceae</i>, <i>Tissierella soehngenia</i> (Wu et al., 2017) • Deterioro simultáneo de la microbiota y el epitelio intestinal como consecuencia del déficit de circulación sanguínea (Wu et al., 2017) • Aumento de bacterias del género <i>Lachnospiraceae</i> (productor de butirato como respuesta a la necesidad de recuperación del colon (Wu et al., 2017)
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)	<p>Deficiencia respiratoria y limitación del flujo de aire en conjunto con estrés oxidativo, inflamación sistémica, desequilibrio de proteasas/antiproteasas⁶⁰ además del aumento de vulnerabilidad del pulmón a patógenos (Wu et al., 2021)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • El humo de cigarro produce disbiosis de la microbiota del tracto respiratorio que normalmente apoya al sistema inmune contra la colonización de patógenos produciendo destrucción de la función inmunitaria (Wu et al., 2021) • Pruebas realizadas con 8 yerbas medicinales chinas (<i>Hedysaurum kultijugum</i> Maxim, <i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz, <i>Saposhnikoviae radix</i>, <i>Sinapis semen</i>, <i>Fritillariae thunbrigii</i> Bulbus, <i>Mori cortex</i>, <i>Curcumae rhizoma</i>, <i>Panax notoginseng</i>) demuestran efectos benéficos contra la EPOC provocada por humo de cigarro en ratas, mostrando niveles más bajos de NLPR3⁶¹ e IL-18 (Wu et al., 2021) • Las ratas Wistar sometidas al humo de cigarro mostraron cambios en su microbiota pulmonar: Aumento de bacterias pertenecientes a los géneros <i>Ralstonia</i>, <i>Mycoplasma</i>, <i>Halomonas</i>, <i>Dizetzia</i> y disminución de las bacterias pertenecientes a los géneros <i>Lactobacillus</i> y <i>Bacteroides</i> (Wu et al., 2021)

⁵⁹ Hormona que promueve la señalización de saciedad en el cerebro

⁶⁰ Equilibrio natural del organismo que, de no mantenerse, el exceso de proteasas en el organismo comienzan a digerir componentes de la matriz intersticial de células pulmonares

⁶¹ Proteína receptora que funciona como un potente inductor de inflamación, relacionada ampliamente con la EPOC aguda

Enfermedad	Definición	Avances de investigación
Epilepsia	<p>Trastorno cerebral provocado por varios mecanismos, como la alteración de redes neuronales, inflamación de las neuronas, etc.</p> <p>Los procesos inflamatorios dentro del cerebro son comúnmente el mecanismo crucial de estudio, así como la inflamación periférica (Citraro et al., 2021)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Los modelos animales muestran que la epilepsia tiene una mayor incidencia en pacientes con inflamación intestinal (Citraro et al., 2021) • Grupos de microorganismos se han asociado con la inflamación intestinal, la cual puede migrar al cerebro por vía sanguínea, causando epilepsia (Citraro et al., 2021) • Ratas de estirpe Wistar con genética específica para generar epilepsia muestran cambios en su microbiota intestinal a temprana edad (junto con inflamación del íleon y el colon) (Citraro et al., 2021) • Las ratas con epilepsia tienen una relación <i>Bacteroides/Firmicutes</i> más baja a la edad de un mes cuando las crisis aún no se presentan (Citraro et al., 2021) • Aumento de <i>A. muciniphila</i> en estudios con Parkinson, esclerosis o Alzheimer (Citraro et al., 2021) • Las ratas con crisis epilépticas presentan una disbiosis más severa, así como aumento de bacterias pertenecientes a los filos <i>Proteobacterias</i> y <i>Tenericutes</i>, con una importante reducción de bacterias del género <i>Lactobacillus</i> (Citraro et al., 2021) • Trasplantes de materia fecal de ratas Wistar sanas ayuda con la reducción de crisis y recuperación intestinal (Citraro et al., 2021)
Alzheimer	<p>Demencia comúnmente a edad avanzada que genera pérdidas de memoria, y disociaciones cognitivas, siendo la principal causa de demencia en el mundo, con muy poco conocimiento sobre su causa. (Castillo-Álvarez y Marzo-Sola, 2019).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Se han intentado asociar numerosos microorganismos a su patogenia, a través de autopsias. Las especies asociadas son <i>Chlamydophila pneumoniae</i>, <i>Borrelia burgdorferi</i> y algunas espiroquetas. Estas bacterias se relacionan con la acumulación de placas de β-amiloide⁶² (Castillo-Álvarez y Marzo-Sola, 2019) • Al igual que en la enfermedad de Parkinson, se ve implicado <i>H. pylori</i> (Castillo-Álvarez y Marzo-Sola, 2019) • La presencia de β-amiloide se ha asociado con la abundancia de taxones inflamatorios como <i>Escherichia</i> o <i>Shigella</i> y las citocinas proinflamatorias, así como un descenso de la especie <i>Eubacterium rectale</i> (Castillo-Álvarez y Marzo-Sola, 2019)

⁶² Péptido esencial en la transmisión de información entre neuronas, comúnmente asociada a la enfermedad de Alzheimer, pero con múltiples funciones no asociadas a esta enfermedad

Enfermedad	Definición	Avances de investigación
Hipertensión	Enfermedad caracterizada por una tensión arterial elevada superior al promedio considerado como saludable, esta enfermedad comúnmente incrementa el riesgo de sufrir cardiopatías, encefalopatías y nefropatías (OMS, 2021c)	<ul style="list-style-type: none"> • Existen evidencias de actividad vasomotora disminuida en ratas libres de gérmenes, así como menos sensibilidad a catecolaminas, adrenalina y noradrenalina (Knauff et al., 2019) • Estudios de ratas y humanos muestran una relación entre la hipertensión y la baja diversidad microbiana (Knauff et al., 2019) • Trasplantes de materia fecal de ratas Wistar hipertensas a ratas sanas provocaron aumentos de presión arterial (Knauff et al., 2019) • Estudios metabólicos mostraron contenido elevado de acetato y heptanoato en los AGCC, previo al inicio del aumento de presión arterial (Knauff et al., 2019) • Ratones que no tienen OLR78⁶³ se muestran hipotensos a lo largo de su vida (Knauff et al., 2019) • Los AGCC actúan regulando la presión arterial tanto alta como baja, siendo perfilados mediante la microbiota intestinal como un tratamiento contra la hipertensión (Knauff et al., 2019)
Enfermedad renal crónica ERC	La ERC es una insuficiencia renal que provoca que no se filtre la sangre debidamente, provocando acumulación de metabolitos tóxicos, provocando daños como la formación de diabetes, hipertensión y nefropatía diabética (Anónimo, 2021c; Knauff et al., 2019; Sueyoshi et al., 2019)	<ul style="list-style-type: none"> • La ERC constantemente se ve acompañada en su sintomatología con problemas digestivos como estreñimiento (Knauff et al., 2019; Sueyoshi et al., 2019) • El consumo de adenina⁶⁴ en ratas de estirpe Wistar mostró un aumento de permeabilidad intestinal y toxinas urémicas como el indoxil sulfato que provoca mala regulación de metabolismos del oxígeno en los túbulos renales y supresión de la producción de eritropoyetina⁶⁵ (Knauff et al., 2019; Sueyoshi et al., 2019) • Las ratas Wistar alimentadas con lactulosa mostraron una reducción de taxones bacterianos productores de indol (precursor de indoxil-sulfato) (Knauff et al., 2019; Sueyoshi et al., 2019) • La lactulosa se menciona como posible prebiótico atribuible a mejorar la función renal y los niveles de indoxil sulfato en suero (Knauff et al., 2019; Sueyoshi et al., 2019)

⁶³ Receptor encontrado en arteriolas renales, células de músculo liso y vasos sanguíneos periféricos, el cual es sensible al acetato, propionato y parcialmente, al lactato; comúnmente se activa con AGCC y produce renina

⁶⁴ Modelo de estudio que genera insuficiencia renal al metabolizarse depositándose en cristales en 2,8-dihidroxiadenina en las microvellosidades de los túbulos renales, generando insuficiencia renal

⁶⁵ Hormona generada en los riñones que estimula la producción de glóbulos rojos en la médula ósea

CAPÍTULO 8

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LA INFORMACIÓN RECOPIADA EN LA LITERATURA

Las ratas de la estirpe Wistar, desarrolladas con fines de investigación biológica y médica, han sido las preferidas por la comunidad científica para el estudio de la fisiología de la digestión, estudios de carácter de salud e inducción de cáncer. Además, este animal modelo se ha usado ampliamente en estudios de aditivos alimentarios y sus diversas repercusiones. Lo anterior es debido a su rápido crecimiento en comparación con los humanos. Por lo tanto, investigaciones de solo un par de años permiten emular el desarrollo en diversas etapas de vida. Asimismo, esta especie se caracteriza por su docilidad y fácil manejo. Del mismo modo, se tiene un registro extenso del sistema inmunológico de estos roedores, así como de su funcionamiento. Esto permite abrirse paso en el camino de la investigación sobre la relación entre el sistema inmunológico y el digestivo. Otra ventaja de emplear ratas Wistar como modelo animal de experimentación es que sus sistemas digestivos e inmunológicos tienen una gran similitud con los de muchos otros mamíferos, incluidos los humanos. Por lo tanto, las ratas Wistar se convierten en un modelo de estudio funcional para indagar la relación entre el sistema inmunológico, digestivo y su microbiota intestinal (Dzhalilova et al., 2020; Hernández-Hernández, 2018).

Diversos factores determinan la salud general y el bienestar de un individuo partiendo desde su nacimiento. En los primeros meses de vida los sistemas digestivo e inmunológico no se encuentran totalmente desarrollados, por lo que los primeros alimentos pueden determinar la correcta funcionalidad futura. En este sentido, la leche materna junto con sus factores de crecimiento y los oligoglúcidos específicos, generan un adecuado inicio en el crecimiento y colonización intestinal.

Diversas funciones del sistema inmune comienzan a verse reguladas y funcionando con los factores de crecimiento presentes en la leche materna. Por lo tanto, la ingesta de leche materna es de vital importancia para el desarrollo de todos los mamíferos (García-López, 2011; Torres-Castro et al., 2018; Torres-Castro et al., 2020).

El sistema inmune de las ratas de la estirpe Wistar tiene un funcionamiento muy similar al de los humanos, siendo una red de células, tejidos y órganos, especializados en reconocer sustancias extrañas, microorganismos patógenos, así como de defender al cuerpo de ellos. Se encuentra caracterizado por un tejido linfoide asociado con el intestino. Este tejido se ve afectado por diversos estímulos dados desde el nacimiento como son la exposición a diversas sustancias. Estos estímulos repercuten en el correcto desarrollo y “entrenamiento” del sistema inmune (Dzhalilova et al., 2020).

Adicionalmente, las ratas de la estirpe Wistar, tienen variedades de inmunoglobulinas secretadas similares a las humanas (Haley, 2003). En conjunto con el sistema inmune del intestino se encuentra trabajando la microbiota intestinal. La microbiota intestinal es un conjunto de microorganismos de distintas especies que colonizan el tracto gastrointestinal en distintas proporciones. Estos microorganismos tienen una relación simbiótica con su hospedero. Se ven beneficiadas por la presencia de nutrientes en abundancia, una temperatura constante y una protección. A cambio, estas bacterias otorgan al individuo hospedero un extra de energía al metabolizar sustratos que el individuo por sí mismo no podría. Adicionalmente, estas bacterias generan diversos estímulos y señales químicas. Otra función importante de la microbiota es la protección física del tracto gastrointestinal. La microbiota intestinal sana impide la colonización o el aumento de proporción de microorganismos patógenos. La relación entre humanos-bacterias se encuentra fuertemente asociada con muchas enfermedades, por lo que es necesario realizar investigación al respecto. Gracias a las modernas tecnologías genómicas de secuenciación se han estudiado los

genomas bacterianos incluso con especies que no son cultivables y que resultaban invisibles con los métodos tradicionales (Hansen et al., 2012; Icaza- Chávez, 2013; Thomas y Jobin, 2019).

El sistema inmune tiene un desarrollo y funcionalidad estrechamente relacionado con la microbiota intestinal. Se ha observado que existen diferencias fisiológicas (como en la funcionalidad del sistema inmunológico) entre ratas de la estirpe Wistar libres de gérmenes y aquellas que sí cuentan con microbiota. Diversos estudios han intentado llegar a comprender las vías de señalización de la microbiota intestinal en la red de tejidos, células y órganos del sistema inmune, comprobando parcialmente la hipótesis de la higiene. Esta hipótesis menciona que un sistema inmune funciona de forma “ingenua” con una baja exposición al medio y el exceso de limpieza en una edad temprana. Lo cual genera problemas autoinmunes, vulnerabilidad a patógenos y mal desarrollo inmunitario. Otro hecho es que el contacto del ambiente con el intestino genera diversos estímulos y colonizaciones en el epitelio intestinal, ayudando en el entrenamiento, desarrollo y correcto funcionamiento de las respuestas inmunes (Devalapalli et al., 2006; Martin et al., 2010; Massot-Cladera et al., 2014; Salazar et al., 2014; Zheng et al., 2020).

La microbiota intestinal, el intestino y el cerebro mantienen una estrecha comunicación a través del sistema nervioso mediante señalizaciones en el nervio vago y el sistema circulatorio, con metabolitos secretados por microorganismos. La estrecha relación se da incluso antes de que el individuo tenga el epitelio gastrointestinal colonizado. Lo anterior se evidencia en estudios que muestran que la microbiota intestinal materna de los mamíferos provoca repercusiones sobre el desarrollo cerebral de su descendencia. Las repercusiones asociadas con la microbiota intestinal materna incluyen la alteración del desarrollo fetal cerebral, la afectación de la actividad del sistema locomotor o baja capacidad de filtrar información en el cerebro (Degroote et al., 2016; Jašarević et al., 2015).

A su vez, la microbiota intestinal continúa regulando diversos aspectos cerebrales a lo largo del desarrollo de los individuos como la neuroplasticidad, la microglía y el crecimiento total del cerebro. Esta evidencia plantea la hipótesis de que el entorno intrauterino en realidad no es estéril y que los microorganismos uterinos maternos influyen en el desarrollo fetal cerebral (Chunchai et al., 2018; Mayer et al., 2015).

Algunas investigaciones han tenido como objetivo estudiar las repercusiones sufridas por la microbiota intestinal durante el consumo de ciertas sustancias químicas, como por ejemplo los aditivos alimentarios. Existen muy pocos productos industrializados que se vean exentos del uso de aditivos alimentarios. Por lo tanto, su constante consumo a mediano y largo plazos pueden tener repercusiones entre la población y deben evaluarse estos posibles efectos adversos. Diversos aditivos han sido probados empleando ratas Wistar. Casi todos los aditivos han provocado afectaciones aún al ser suministrados en las proporciones que son consideradas como saludables. Pero, existen otros aditivos que tienen propiedades totalmente inocuas (Cao et al., 2020; Čoklo et al., 2020).

Existe un creciente interés en las repercusiones metabólicas y fisiológicas que dependen de la microbiota intestinal. Se han observado todo tipo de afectaciones: Aumentos de glucosa en sangre, daño tisular de riñones, desequilibrios cardiometabólicos, disminuciones de masa corporal, producción de tumores o inflamaciones sistémicas de los órganos del sistema inmune (Carraro-Foletto et al., 2016; Eweka y Om'Iniabohs, 2008; Eweka et al., 2011; Ganiger et al., 2006; García-Fuentes et al., 2015; Kumar-Choudhary y Sheela-Devi, 2014; Longdet et al., 2018; Risdon et al., 2020; Vasantharaja et al., 2014; Wopara et al., 2019).

Las diversas afectaciones a la microbiota, generan un estado de desequilibrio llamado disbiosis. Este desequilibrio puede, además, provocar enfermedades como la obesidad o la diabetes (Gual-Grau, 2019; Marques et al., 201; Neyrinck et al., 2012). Los filos bacterianos de mayor dominancia en el tracto gastrointestinal

son los *Firmicutes* y *Bacteroidetes*. Estos filos representan en algunas especies hasta el 90% de su microbiota intestinal. Variar las proporciones entre estos dos filos provoca una repercusión notable en el individuo, produciendo obesidad (cuando aumenta drásticamente la cantidad de *Firmicutes*) o una inflamación intestinal (cuando aumenta drásticamente la cantidad de *Bacteroidetes*). Existen microorganismos que en abundancia se consideran marcadores de salud, como *Lactobacillus* o los productores de ácidos grasos de cadena corta (Gual-Grau, 2019; Marques et al., 201; Neyrinck et al., 2012; Stojanov et al., 2020).

Existen organismos libres de gérmenes, creados con fines de investigación para compararlos con individuos convencionales. Los organismos libres de gérmenes son creados aprovechando la aparente esterilidad del útero y provocando su nacimiento por cesárea en condiciones asépticas. Además, se les mantiene en condiciones estériles. Los roedores libres de gérmenes han presentado reacciones diversas consideradas anormales contra los individuos convencionales. Entre estas reacciones adversas están el aumento de masa sin adiposidad, un consumo alto en grasas y un aumento en la oxidación de ácidos grasos en el hígado y en el músculo (King y Russell, 2006; Li, 2014).

Las ratas Wistar libres de gérmenes tienen algunas diferencias fisiológicas con los individuos normales. Un ejemplo de ello es que las ratas libres de gérmenes tienen resistencia a la degeneración al miocardio o a la poliarteritis nodosa. Sin embargo, existen muchos problemas generados por la condición libres de gérmenes. Un ejemplo de los efectos adversos de no tener microbiota es desarrollar hemorragias espontáneas por la carencia de vitamina K. Lo anterior se debe a que muchas bacterias producen vitaminas en el tracto gastrointestinal y ayudan a su asimilación a partir de la dieta. Las ratas libres de gérmenes llegan a presentar problemas en su tracto digestivo como tener un ciego hasta 5 veces mayor (debido a la presión osmótica), torsiones y obstrucciones intestinales. Como consecuencia de esto, presentan una pared intestinal delgada, presencia de cálculos renales, un corazón más pequeño, un tamaño reducido de las placas de

Peyer del sistema inmune, ganglios linfáticos más pequeños y cantidades muy reducidas de inmunoglobulinas. Todos los problemas anteriores son debidos a la falta de microbiota intestinal y la falta de un desarrollo óptimo del sistema inmunológico. Algunos estudios como los de cáncer colorrectal o el de próstata eligen como modelo de estudio a las ratas Wistar libres de gérmenes debido a que el sistema inmune actúa de manera distinta. En estas ratas el sistema inmune tiene una participación más activa. En algunos casos estas ratas son inmunes a ciertos tipos de cáncer como el de oído. Otros estudios abordan temas como el de la farmacocinética o la absorción de alimentos. Al parecer, los microorganismos presentes en el intestino de ratas convencionales ayudan a la absorción de estas sustancias. Adicionalmente, existen indicios de su participación en alergias o enfermedades alimentarias como la enfermedad celiaca (Cinova et al., 2011; King y Russell, 2006; Li, 2014; Liu et al., 2012; Vannucci et al., 2007).

Finalmente, el estudio de la microbiota intestinal tiene una influencia constante en la salud de los individuos, su homeostasis energética y el desarrollo final del sistema inmunológico. Asimismo, la microbiota intestinal influye sobre trastornos metabólicos como la obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes. Estas relaciones microbiota intestinal-salud son de vital importancia dadas sus repercusiones, llegando a modificar incluso el fenotipo de los individuos al tener relación sobre la expresión de algunos genes. Muchos microorganismos tienen influencia sobre la obtención de energía, debido al uso de enzimas capaces metabolizar carbohidratos que el hospedero no tiene en su genoma. Las bacterias de la microbiota intestinal producen ácidos grasos de cadena corta, los cuales resultan en un beneficio para el organismo. Varios estudios muestran la diversidad bacteriana como una señal de salud, aunque la proporción de *Bacteroidetes* y *Firmicutes* es la más usada para hablar de obesidad y exceso de masa corporal. (Gual-Grau, 2019; Li, 2014; Wang et al., 2001; Xin et al., 2001).

Se han reportado diversas dietas, así como prebióticos y probióticos (ingesta de proantocianidinas, quercitina, resveratrol o productos fermentados) para mejorar la

microbiota intestinal. Como consecuencia de mejorar la microbiota intestinal se podría mantener una masa corporal adecuada. Las recientes y futuras investigaciones se centran en la relación directa entre muchas enfermedades y la alimentación. Por lo tanto, todo apunta a que en el futuro las terapias incluirán un monitoreo de la alimentación y la microbiota como medicina preventiva en la constante búsqueda de individuos sanos (Gual-Grau, 2019; Li, 2014; Wang et al., 2001; Xin et al., 2001).

La disbiosis y la permeabilidad intestinal pueden provocar sobreestimulaciones en el sistema inmune. Estas sobreestimulaciones probablemente sean potenciadas con las estimulaciones propias de la microbiota intestinal. Como consecuencia de la sobreestimulación del sistema inmune se provocan afectaciones a tejidos y órganos por la constante inflamación sistémica. Estas afectaciones desencadenan diversas enfermedades autoinmunes. En estas enfermedades el propio sistema inmune funciona contra el individuo. Por el contrario, una baja estimulación del sistema inmune puede provocar que el individuo se encuentre inmunocomprometido. Se puede concluir que ninguno de los 2 extremos se considera benéfico. Como una solución, los inmunomoduladores cobran un interés general en los investigadores del mundo, ya que pueden corregir tanto la sobre activación del sistema inmune como la falta de funcionamiento. Los inmunomoduladores pueden ser probióticos, prebióticos, algunos alimentos y extractos herbales (Addou et al., 2015; Chapat et al., 2004; Chen et al., 2009; Delgado-Venegas, 2018; Di Primio et al., 2021; Ezendam, et al., 2006; Hansen et al., 2019; Hart et al., 2004; Lollo et al., 2012; Marrack, et al., 2001; Messori et al., 2013; McLean et al., 2015; Neu et al., 2005; Noor et al., 2015; Rasool et al., 2022; Reyes-Pavón, 2020; Ruiz-Iglesias et al 2020; Tlaskalová-Hogenová et al., 2011).

Es de conocimiento general y colectivo (con bases económicas fundamentadas) que la medicina preventiva representaría un menor gasto en un sistema nacional de salud que el gasto constante de medicina curativa. El emplear los principios de la medicina preventiva no solamente aumentaría la expectativa de vida de las

poblaciones, sino que además aumentaría su calidad de vida. En este sentido, los estudios realizados sobre la microbiota intestinal en relación con el desarrollo y correcto funcionamiento del sistema inmune, así como de diversas enfermedades relacionadas con esta, representa una rama fuerte en constante avance en la medicina. Los monitoreos y correcciones de la microbiota intestinal, acompañados de suplementos alimenticios específicos, podrían evitar el desarrollo de muchas enfermedades. Muchas enfermedades que representan las principales causas de muerte en el mundo se encuentran involucradas con una inadecuada microbiota intestinal. Otras enfermedades no mortales como la epilepsia, el autismo, la enfermedad de Alzheimer o el Parkinson también están relacionadas con la microbiota intestinal y su tratamiento debe ser el adecuado ya que son las que más generan dependencia de cuidados familiares (Arredondo, 2014; Castillo- Álvarez, y Marzo-Sola, 2019; Citraro et al., 2021; Guilleminault et al., 2016; Knauf et al., 2019; McCafferty et al., 2012; Sueyoshi et al., 2019; Wang, 2018; Wang et al., 2021; Wu et al., 2017; Wu et al., 2021).

La relación entre la microbiota intestinal, la dieta, el sistema inmune y diversas enfermedades es vital para investigaciones futuras. Conocer estas relaciones representan tal vez los pasos iniciales de esa futura medicina preventiva.

CAPÍTULO 9

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

9.1. Conclusiones

La hipótesis de la presente investigación fue que el tipo de dieta suministrada a las ratas hembra y macho de la estirpe Wistar influye sobre la microbiota intestinal y la maduración del sistema inmune. De acuerdo con el análisis realizado, esta hipótesis es aceptada.

Con base en el objetivo general de la investigación el cual fue el de “Estudiar en un modelo animal las repercusiones en la microbiota intestinal y la maduración del sistema inmunológico debido al tipo de dieta suministrada” es posible mencionar las siguientes conclusiones:

- El tipo de dieta suministrada a las ratas hembra y macho de la estirpe Wistar influye sobre la microbiota intestinal y la maduración del sistema inmune.
- La estrecha relación entre la microbiota intestinal, la dieta y el sistema inmunológico representa uno de los caminos de investigación más importantes de la actualidad en términos de salud
- La dieta repercute en el completo desarrollo del tracto gastrointestinal desde el momento de nacer
- La alimentación repercute en el completo desarrollo y correcto funcionamiento del sistema inmunológico
- Los aditivos alimentarios como los edulcorantes y los conservadores repercuten negativamente sobre la microbiota intestinal
- Los estímulos externos del medio sobre el tracto gastrointestinal y los individuos ayudan al correcto entrenamiento, modulación, funcionamiento y desarrollo del sistema inmunológico

- El completo desarrollo del tracto gastrointestinal incluye una correcta colonización de microorganismos que formen la microbiota intestinal
- El mal desarrollo de los especímenes puede deberse a una deficiencia en su sistema inmune provocado por diversas afectaciones en la microbiota intestinal (o la de su madre) desde su nacimiento
- Los aditivos alimentarios, así como diversos alimentos deben ser estudiados con una mayor profundidad y a lo largo del tiempo en cuanto a

las repercusiones en la microbiota intestinal y en la fisiología de los individuos como parte de sus regulaciones

- La disbiosis intestinal puede promover desregulaciones en el sistema inmune provocando inflamaciones sistémicas, enfermedades autoinmunes o mal funcionamiento inmunitario
- La inmunoregulación mediante probióticos, prebióticos y alimentos especializados es de suma importancia para un sano funcionamiento del sistema inmune aún en individuos sanos
- Existe una gran cantidad de enfermedades estrechamente relacionadas con la microbiota intestinal, por lo cual han surgido muchas investigaciones sobre ella y el cómo modificarla
- En el futuro la medicina preventiva deberá considerar a las relaciones entre la microbiota intestinal y el resto de los sistemas del hospedero.

Derivado de las evidencias encontradas en la literatura se pueden concluir las siguientes recomendaciones para tener un adecuado sistema inmune:

- Promover la lactancia materna durante los primeros meses de vida con el fin de promover un adecuado desarrollo gastrointestinal y un cuidado inmunitario mientras transcurre el tiempo de desarrollo propio del individuo
- Promover el bienestar general de la madre en el periodo previo al gestacional y durante el mismo para evitar repercusiones en el organismo del producto
- No promover el uso indiscriminado de antibióticos durante el embarazo
- Promover el nacimiento por parto natural, en aquellos casos que sea posible, con el fin de que el recién nacido tenga una correcta inoculación con microorganismos benéficos.
- No promover el exceso de higiene en los recién nacidos
- Promover el consumo de probióticos como *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* con la finalidad de modular el sistema inmunológico y reducir el riesgo de inflamaciones intestinales y sistémicas

- Promover el consumo de prebióticos como los Xylooligoglúcidos con el fin de beneficiar el crecimiento de la microbiota intestinal
- Evitar el exceso del consumo de aditivos alimentarios, ya que su consumo está relacionado con algunas disrupciones de la microbiota intestinal. Existen cambios en la microbiota intestinal que representan un cambio benéfico, sin embargo, requieren de mayores estudios para que su consumo sea recomendado
- Evitar las dietas altas en grasas y carbohidratos para no promover desbalances de microbiota intestinal o disbiosis
- Promover el consumo medido de soya o genisteína durante la juventud con el fin de disminuir las probabilidades de cáncer en próstata en varones adultos

9.2. Recomendaciones

Derivado de los objetivos, resultados y conclusiones se tienen las siguientes recomendaciones a la investigación:

- Investigar las repercusiones sobre la microbiota intestinal y el desarrollo del sistema inmune con diversas combinaciones de aditivos
- Se deberá indagar sobre otros aditivos alimentarios que no fueron evaluados en la presente búsqueda bibliográfica como espesantes, reguladores del pH, otros colorantes, potenciadores del sabor, antiaglutinantes, etc.
- Considerar el estudio de los aditivos alimentarios en sus diferentes presentaciones
- Indagar el efecto sinérgico de diversos aditivos alimentarios en diferentes matrices alimentarias
- Se deberán indagar los efectos de diferentes sustancias químicas sobre la microbiota intestinal materna y sus repercusiones sobre la fisiología del producto al consumir aditivos durante el embarazo

Anexo1. Disposición controlada de residuos

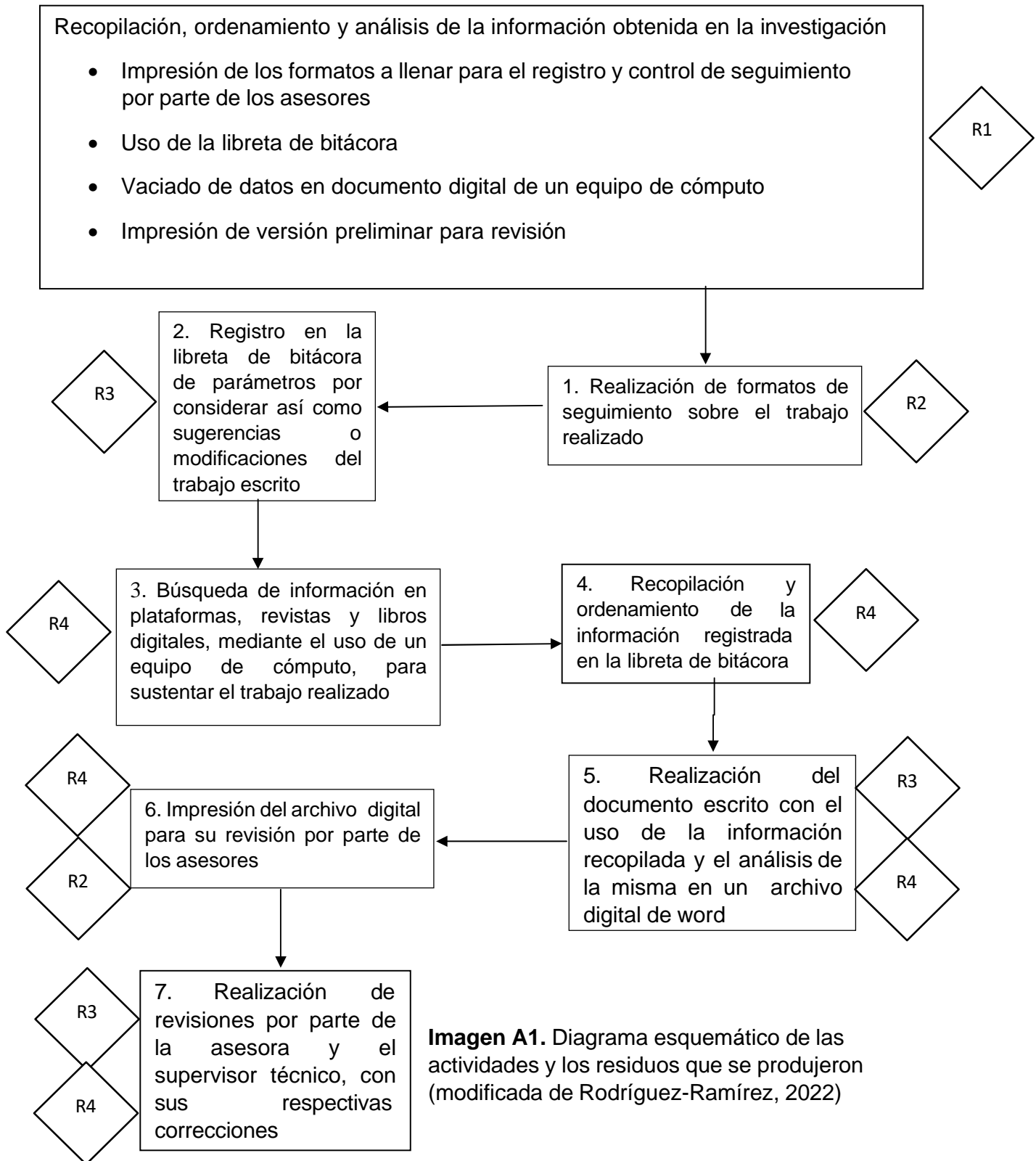


Imagen A1. Diagrama esquemático de las actividades y los residuos que se produjeron (modificada de Rodríguez-Ramírez, 2022)

Disposición controlada de residuos producidos en la investigación teórica (modificado de Rodríguez-Ramírez, 2022)

R1. Libreta de bitácora. Al concluir su uso en los archivos de los LIQyQA, de acuerdo con los documentos de calidad correspondientes, se convertirá en un residuo no peligroso que se debe colocar en el depósito de residuos inorgánicos o se podría colocar en el depósito de residuos inorgánicos que se disponen para ser reciclados.

R2. Cartuchos o tóner para la impresora e impresora. Al terminar su vida útil se transforman en un residuo peligroso que debe colocarse en el depósito de residuos electrónicos para que pueda ser recogido por una compañía de disposición de residuos electrónicos.

R3. Artículos de papelería: hojas de papel, bolígrafos, lápices, sacapuntas, grapas, clips, entre otros. Cuando terminan su vida útil se consideran residuos inorgánicos no peligrosos que son desechados y/o reutilizados por el personal de los Laboratorios de Ingeniería Química y Química Ambiental en el depósito correspondiente.

R4. Computadoras personal y de regazo (PC o laptop y sus artículos como ratón, teclado, cámara, micrófono, audífonos, etc.). Al llegar a su obsolescencia o fallo se convierten en residuos peligrosos que deben desecharse en los depósitos de residuos electrónicos para que sean recogidos por una compañía de disposición de residuos electrónicos. De acuerdo con la Procuraduría Federal del Consumidor (2021) existen diferentes lugares donde se pueden reciclar los aparatos electrónicos. Algunas de las opciones se enlistan a continuación:

- Apple: Tiene un sistema de canje en el que se ofrecen créditos para comprar un nuevo dispositivo a cambio del anterior, para esto se deben cumplir con ciertos requisitos. Si no se cumplen la compañía recicla los dispositivos gratuitamente

- Programa Verde de ANATEL (Asociación Nacional de Telecomunicaciones): En este programa se ven involucrados las principales empresas de telefonía celular. Consiste en varios centros de acopio en todo el país para reciclar los dispositivos móviles y sus baterías
- Recicla Computadoras México: Empresa que se encuentra en la Ciudad de México con experiencia en procesos de reciclaje de computadoras
- Reciclatrón: Programa que promueve el correcto manejo, separación y reciclaje de residuos electrónicos y eléctricos que realiza la Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México (Procuraduría Federal del Consumidor, 2021)

BIBLIOGRAFÍA

- Aboel-Zahab, H., El-Khyat, Z., Sidhom, G. 1997. Physiological effects of some synthetic food colouring additives on rats. *Bollettino Chimico Farmaceutico*. 136(10): 615-627.
- Abou-Donia, M., El-Masry, E., Abdel-Rahman, A., McLendon, R., Schiffman, S. 2008. Splenda alters gut microflora and increases intestinal P-glycoprotein and cytochrome P-450 in male rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*. 21: 1415–1429. <https://doi.org/10.1080/15287390802328630>
- Addou, S., Benaoumer, N., Bessalah, A., Mezemaze, F., Kheroua, O. 2015. Effet des prébiotiques sur la flore intestinale des rats Wistar. *Revue Française d'Allergologie*. 55(3): 238.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1877032015001827>
- Alarcón, P., González, M., Castro, E. 2016. Rol de la microbiota gastrointestinal en la regulación de la respuesta inmune. *Revista Médica de Chile*, 144: 910-916.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872016000700013>
- Anderson, R. L., Kirkland, J. J. 1980. The effect of sodium saccharin in the diet on caecal microflora. *Food and Cosmetics Toxicology*. 18(4): 353–355.
[https://doi.org/10.1016/0015-6264\(80\)90188-1](https://doi.org/10.1016/0015-6264(80)90188-1)
- Anónimo. 2010. Quercetina.
<https://www.iqb.es/nutriceutica/quercetina.jpg>
- Anónimo. 2019a. Eritrosina.
<https://es.wikipedia.org/wiki/Eritrosina#/media/Archivo:Erythrosine.svg>
- Anónimo. 2019b. Acesulfame-K o acesulfamo-K.
<https://quimicafacil.net/wp-content/uploads/2019/03/Acesulfamo-k.jpg>
- Anónimo. 2020. Genisteína.
<https://es.wikipedia.org/wiki/Geniste%C3%ADna#/media/Archivo:Genistein.svg>
- Anónimo. 2021a. Curcumina.
<https://es.wikipedia.org/wiki/Curcumina>.
- Anónimo. 2021b. Benzoato de sodio.
https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c9/Sodium_Benzoate_V.1.svg/270px-Sodium_Benzoate_V.1.svg.png
- Anónimo. 2021c. Nefropatía diabética.
<https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/diabetic-nephropathy/symptoms-causes/syc-20354556>
- Anónimo. 2022a. Monoglutamato de sodio.
https://es.wikipedia.org/wiki/Glutamato_monos%C3%B3dico#/media/Archivo:Monosodium_glutamate_Structural_Formula_V1.svg
- Anónimo. 2022b. Sulfito de sodio anhidro.
<https://vichemic.pl/wp-content/uploads/2019/11/7757-83-7.jpg>
- Anónimo. 2022c. Sucralosa.
<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c1/Sucralose.svg/330px-Sucralose.svg.png>
- Anónimo. 2022d. Sacarina.
<https://es.wikipedia.org/wiki/Sacarina#/media/Archivo:Saccharin.svg>
- Anónimo. 2022e. Aspartame.
<https://es.wikipedia.org/wiki/Aspartamo#/media/Archivo:Aspartame.svg>

- Anónimo. 2022f. Resveratrol.
<https://es.wikipedia.org/wiki/Resveratrol#/media/Archivo:Resveratrol.png>
- Arredondo, A., 2014. Type 2 diabetes and health care costs in Latin America: Exploring the need for greater preventive medicine. *Bio-Medical Central Medicine*. 12(1): 1-6. <https://doi.org/10.1186/s12916-014-0136-z>
- Arseneault-Bréard, J., Rondeau, I., Gilbert, K., Girard, S., A., Tompkins, T., A., Godbout, R., Rousseau, G. 2012. Combination of *Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175 reduces post-myocardial infarction depression symptoms and restores intestinal permeability in a rat model. *British Journal of Nutrition*. 107(12): 1793-1799.
<https://doi.org/10.1017/S0007114511005137>
- Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D., Fernandez, G. R., Tap, J., Bruls, T., Batto, J., Bertalan, M., Borruel, N., Casellas, F., Fernandez, L., Gautier, L., Hansen, T., Hattori, M., Hayashi, T., Kleerebezem, M., Kurokawa, K., Leclerc, M., Levenez, F., Manichanh, C., Nielsen, H. B., Nielsen, T., Pons, N., Poulain, J., Qin, J., Sicheritz-Ponten, T., Tims, S., Torrents, D., Ugarte, E., Zoetendal, E. G., Wang, J., Guarner, F., Pedersen, O., de Vos, W. M., Brunak, S., Doré, J., MetaHIT Consortium, Weissenbach, J., Ehrlich, S. D., Bork, P. 2011. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 473(12): 174-180.
<https://doi.org/10.1038/nature09944>
- Bayona-González, A. 2019. Interacción entre dieta, microbiota y sistema inmunológico, su rol en la enfermedad inflamatoria intestinal y tratamientos novedosos basados en este enfoque. [Tesis de Licenciatura]. Universidad del País Vasco, Facultad de Medicina y Enfermería. Lejona, España.
- Bercik, P., Denou, E., Collins, J., Jackson, W., Lu, J., Jury, J., Deng, Y., Blennerhassett, P., Macri, J., McCoy, K. D., Verdu, E. F., Collins, S. M. 2011. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotropic factor and behavior in mice. *Gastroenterology*. 141: 599-609.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.04.052>
- Bian, X., Chi, L., Gao, B., Tu, P., Ru, H., Lu, K. 2017a. The artificial sweetener acesulfame potassium affects the gut microbiome and body 'weight'⁶⁶ gain in CD-1 mice. *PLoS ONE*. 12(6): 1-16.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178426>
- Bian, X., Tu, P., Chi, L., Gao, B., Ru, H., Lu, K. 2017b. Saccharin induced liver inflammation in mice by altering the gut microbiota and its metabolic functions. *Food and Chemical Toxicology*. 107: 530-539.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.045>
- Bordoni, L., Gabbianelli, R., Fedeli, D., Fiorini, D., Bergheim, I., Jin, C. J., Marinelli, L., Di-Stefano, A., Nasuti, C. 2019. Positive effect of an electrolyzed reduced water on gut permeability, fecal microbiota and liver in an animal model of Parkinson's disease. *Public Library of Science ONE*, 14(10), 1-17.
- Borruel, N. 2007. Probióticos y prebióticos en la enfermedad inflamatoria intestinal. *Gastroenterología y Hepatología*. 30(7): 419-425.
<https://doi.org/10.1157/13108812>

⁶⁶ *Weight* (peso) y *mass* (masa) no son sinónimos. El peso es una fuerza aplicada a los cuerpos y se mide en Newtons y la masa es una propiedad de los cuerpos y se mide en kilogramos

- Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., Bienenstock, J., Cryan, J. F. 2011. Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 108(38): 16050-16055. <https://doi.org/10.1073/pnas.1102999108>
- Brial, F., Matsuda, F., Gauguier, D. 2021. Diet dependent impact of benzoate on diabetes and obesity in mice. *Biochimie*. 194: 35-42. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2021.12.010>
- Cao, Y., Liu, H., Qin, N., Ren, X., Zhu, B., Xia X., 2020. Impact of food additives on the composition and function of gut microbiota: A review. *Trends in Food & Science Technology*. 99: 295-310. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.006>
- Carraro-Foletto, K., Melo-Batista, B. A., Magagnin-Neves, A., de-Matos Feijó, F., Reis-Ballard, C., Marques-Ribeiro, M. F., Casaccia-Bertoluci, M. 2016. Sweet taste of saccharin induces 'weight'⁶⁷ gain without increasing caloric intake, not related to insulin-resistance in Wistar rats. *Appetite*, 96, 604-610. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2015.11.003>
- Carter, P., Foster, H. 2006. Gnotobiotic. En *The Laboratory Rat*, Suckow, M., Weisbroth, S., Franklin, C., eds., Academic Press, 2ª ed., pp. 693-710. Nueva York, EE.UU.
- Casanova-Martí, A., Serrano, J., Portune, K. J., Sanz, Y., Blay, M. T., Terra, X., Ardévol, A., Pinent, M. 2017. Grape seed proanthocyanidins influence gut microbiota and enteroendocrine secretions in female rats. *Food Function*. 9(3): 1672–1682. <https://doi.org/10.1039/C7FO02028G>
- Castillo-Álvarez, F., Marzo-Sola, M., E. 2019. Papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de diferentes enfermedades neurológicas. *Neurología*. 37: 492-498. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2019.03.017>
- Chacar, S., Itani, T., Hajal, J., Saliba, Y., Louka, N., Faivre, J. F., Maroun, R., Fares, N. 2018. The impact of long-term intake of phenolic compounds-rich grape pomace on rat gut microbiota. *Journal of Food Science*. 83: 246–251. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14006>
- Chapat, L., Chemin, K., Dubois, B., Bourdet-Sicard, R., Kaiserlian, D. 2004. *Lactobacillus casei* reduces CD8+ T cell-mediated skin inflammation. *European Journal of Immunology*. 34(9): 2520-2520. <https://doi.org/10.1002/eji.200425139>
- Chen, G. Q., Chen, Y. Y., Wang, X. S., Wu, S. Z., Yang, H. M., Xu, H. Q., He, J. C., Wang, X. T., Chen, J. F., Zheng, R. Y. 2009. Chronic caffeine treatment attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis induced by guinea pig spinal cord homogenates in Wistar rats. *Brain Research*. 1309: 116-125. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.10.054>
- Chen, T., You, Y., Xie, G., Zheng, X., Zhao, A., Liu, J., Zhao, Q., Wang, W., Huang, F., Rajani, C., Wang, C., Chen, S., Ni, Y., Yu, H., Deng, Y., Wang, X., Jia, W. 2018. A strategy for an association study of the intestinal microbiome and brain metabolome across the lifespan of rats. *Analytical Chemistry*. 90(4): 2475-2483. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b02859>

⁶⁷ *Weight* (peso) y *mass* (masa) no son sinónimos. El peso es una fuerza aplicada a los cuerpos y se mide en Newtons y la masa es una propiedad de los cuerpos y se mide en kilogramos

- Chunchai, T., Thunapong, W., Yasom, S., Wanchai, S., Eaimworawuthikul, S., Metzler, S., Lungkaphin, A., Pongchaidecha, A., Sirilun, S., Chaiyasut, C., Pratchayasakul, W., Thiennimitr, P., Chattipakorn N., Chattipakorn, S. C., 2018. Decreased microglial activation through gut-brain axis by prebiotics, probiotics, or synbiotics effectively restored cognitive function in obese-insulin resistant rats. *Journal of Neuroinflammation*, 15(1), 1-15.
<https://doi.org/10.1186/s12974-018-1055-2>
- Ciardi, C., Jenny, M., Tschoner, A., Ueberall, F., Patsch, J., Pedrini, M., Ebenbichler, C., Fuchs, D. 2011. Food additives such as sodium sulphite, sodium benzoate and curcumin inhibit leptin release in lipopolysaccharide- treated murine adipocytes *in vitro*. *British Journal of Nutrition*. 107(06): 826– 833.
<https://doi.org/10.1017/s0007114511003680>
- Cinova, J., De Palma, G., Stepankova, R., Kofronova, O., Kverka, M., Sanz, Y., Tuckova, L. 2011. Role of intestinal bacteria in gliadin-induced changes in intestinal mucosa: Study in germ-free rats. *PLOS ONE*. 6(1): e16169.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016169>
- Citraro, R., Lembo, F., De Caro, C., Tallarico, M., Coretti, L., Iannone, L. F., Leo, A., Palumbo, D., Cuomo, M., Buomino, E., Nesci, V., Marascio, N., Iannone, M., Quirino, A., Russo, R., Calignano, A., Constanti, A., Russo, E., De Sarro, G. 2021. First evidence of altered microbiota and intestinal damage and their link to absence epilepsy in a genetic animal model, the WAG/Rij rat. *Epilepsia*. 62(2): 529-541. <https://doi.org/10.1111/epi.16813>
- Čoklo, M., Maslov, D. R., Pavelić, S. K. 2020. Modulation of gut microbiota in healthy rats after exposure to nutritional supplements. *Gut Microbes*. 12(1): 1-28. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1779002>
- Cook, S., Goldoft, M., Schartz, S. M., Weiss, N. S. 1999. Incidence of adenocarcinoma of the prostate in Asian immigrants to the United States of America and their descendants. *The Journal of Urology*. 161(1): 152-155.
[https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(01\)62086-X](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(01)62086-X)
- Cotillard, A., Kennedy, S., Kong, L., Prifti, E., Pons, N., Le Chatelier, E, Almeida, M., Quinquis, B., Levenez, F., Galleron, N., Gougis, S., Rizkalla, S., Batto, J., Renault, P., Dore, J., Zucker, J., Clement, K., Dusko, S., 2013. Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 500(7464): 585-588. <https://doi.org/10.1038/nature12480>
- Crumeyrolle-Arias, M, Jaglin, M., Bruneau, A., Vancassel, S., Cardona, A., Daugé, V., Naudon, L., Rabot, S. 2014. Absence of the gut microbiota enhances anxiety-like behavior and neuroendocrine response to acute stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*. 42: 207-217.
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.01.014>
- Cryan, J. F., O’Riordan, K. J., Cowan, C. S., M., Sandhu, K. V., Bastiaanssen, T. F. S., Boehme, M., Codagnone, G. M., Cussotto, S., Fulling, C., Golubeva, A. V., Guzzetta, K. E., Jaggar, M. Long-Smith, C. M., Lyte, J. M., Martin, J. A., Molinero-Perez, A., Moloney, G., Morelli, E., Morillas, E., O’Connor, R., Cruz- Pereira J. R., Peterson, V. R., Rea, K., Ritz, N. L., Sherwin, E., Spichak, S., Teichman, E. M., Van de Wouw, M., Ventura-Silva, A. P., Wallace-Fitzsimons, S., E., Hyland, N., Clarke, G., Dinan, T. G. 2019. The microbiota-gut-brain axis. *Physiological Reviews*. 99(4): 1877-2013.

- <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>
- Davari, S., Alaei, S. A., Salami, M. 2013. Probiotics treatment improves diabetes-induced impairment of synaptic activity and cognitive function: behavioral and electrophysiological proofs for microbiome-gut-brain axis. *Neuroscience*. 240: 287–296. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.02.055>
- Degroote, S., Hunting, D. J., Baccarelli, A. A., Takser, L., 2016. Maternal gut and fetal brain connexion: Increased anxiety and reduced social interactions in Wistar rat offspring following peri-conceptional antibiotic exposure. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 71(1): 76-82. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2016.06.010>
- Delgado-Venegas, C. S. 2018. Posible efecto modulador del probiótico *Lactococcus lactis* recombinante y silvestre sobre el daño hepático inducido por CCl₄ en un modelo de rata Wistar [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas. Aguascalientes, México.
- Devalapalli, A. P., Leshner, A., Shieh, K., Solow, J. S., Everett, M. L., Edala, A. S., Whitt, P., Long, R. R., Newton, N., Parker, W. 2006. Increased Levels of IgE and autoreactive, polyreactive IgG in wild rodents: Implications for the hygiene hypothesis. *Scandinavian Journal of Immunology*. 64(2): 125–136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2006.01785.x>
- Di Primio, A. N., Duca, G., Rubio, C. 2021. Actividad de los fructooligosacáridos como prebiótico y efectos sobre el tracto intestinal. *BioTecnología*. 25(1): 10- 20.
- 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 Signo decimal 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. Ciudad de México, México.
- Durán-Domínguez-de-Bazúa, M.d.C. 2017. Aditivos: Negocios a la Moda. Parte IV. *RD-ICUAP*. 3(2): 1-31.
- Dzhalilova, D. S., Kosyreva, A., Tsvetkov, I., Zolotova, N., Mkhitarov, M., Mikhailova, L., Makarova, O. 2020. Morphological and functional peculiarities of the immune system of male and female rats with different hypoxic resistance. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 169: 773-778. <https://doi.org/10.1007/s10517-020-04989-1>
- Elinav, E., Henao-Mejia, J., Flavell, R. 2013. Integrative inflammasome activity in the regulation of intestinal mucosal immune responses. *Mucosal Immunology*. 6: 4-13. <https://doi.org/10.1038/mi.2012.115>
- Espinoza, J. 2009. Desnutrición temprana en ratas, impacto comparado con el hombre.

- <https://www.revistaserendipia.com/ciencia/periodismo-cient%C3%ADfico/desnutrici%C3%B3n-temprana-en-ratas-impacto-comparado-con-el-hombre>
- Eweka, A., Igbigbi, P., Ucheya, R. 2011. Histochemical studies of the effects of monosodium glutamate on the liver of adult Wistar rats. *Annals of Medical and Health Science Research*. 1(1): 21-30.
- Eweka, A., Om'Iniabohs, F. 2008. Histological studies of the effects of monosodium glutamate on the inferior colliculus of adult Wistar rats. *Electronical Biomedical Journal*. 3: 24-30.
- Ezendam, J., Baken, K., van Loveren, H. 2006. Immune effects of *Lactobacillus casei* Shirota. RIVM reports. pp 1-52. Bilthoven, Países Bajos.
- Farid, A., Hesham, M., El-Dewak, M., Amin, A. 2020. The hidden hazardous effects of stevia and sucralose consumption in male and female albino mice in comparison to sucrose. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 28(10): 1290–1300.
<https://doi.org/10.1016/j.jsps.2020.08.019>
- Ganiger, S., Malleshappa, H. N., Krishnappa, H., Rajashekhar, G., Ramakrishna-Rao, V., Sullivan, F. 2006. A two generation reproductive toxicity study with curcumin, turmeric yellow, in Wistar rat. *Food and Chemical Toxicology*. 45(1): 64-69.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.07.016>
- García-Fuentes, A., Wirtz, S., Vos, E., Verhagen, H. 2015 Short review of sulphites as food additives. *European Journal of Nutrition & Food Safety*. 5(2): 113-120.
<https://doi.org/10.9734/EJNFS/2015/11557>
- García-López, R. 2011. Composición e inmunología de la leche humana. *Acta Pediátrica Mexicana*. 32(4): 223-230.
<http://dx.doi.org/10.18233/APM32No4pp223-230>
- Gual-Grau, A. 2019. Gut microbiota dysbiosis in diet-induced obesity. A focus on the influence of genetics, circadian rhythms and potential prebiotics. [Tesis Doctoral]. Universitat Rovira i Virgili, Facultat de Química. Tarragona, España.
- Guilleminault, L., Ouksef, H., Belleguic, C., Le Guen, Y., Germaud, P., Desfleurs, E., Leroyer, C., Magnan, A. 2017. Personalised medicine in asthma: From curative to preventive medicine. *European Respiratory Review*. 26(143): 1-14.
<https://doi.org/10.1183/16000617.0010-2016>.
- Gupta, S., Kalra, S., Bharihoke, V., Dhurandhar, D. 2014. Sucralose induced pancreatic toxicity in albino rats: Histomorphological evidence. *Journal of Morphological Sciences*. 31(02): 123–127. <https://doi.org/10.4322/jms.073614>
- Haley, P. 2003. Species differences in the structure and function of the immune. *Toxicology*. 188(1): 49-71. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00043-X](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00043-X)
- Hansen, C. H. F., Larsen, C. S., Petersson, H. O., Zachariassen, L. F., Vegge, A., Lauridsen, C., Kot, W., Krych, Ł., Nielsen, D. S., Hansen, A. K. 2019. Targeting gut microbiota and barrier function with prebiotics to alleviate autoimmune manifestations in NOD mice. *Diabetologia*. 62(9): 1689-1700.
<https://doi.org/10.1007/s00125-019-4910-5>
- Hansen, C. H. F., Nielsen, D. S., Kverka, M., Zakostelska, Z., Klimesova, K., Hudcovic, T., Tlaskalová-Hogenová, H., Hansen, A. K. 2012. Patterns of early gut colonization shape future immune responses of the host. *PLoS ONE*. 7(3): e34043. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034043>

- Hart, A. L., Lammers, K., Brigidi, P., Vitali, B., Rizzello, F., Gionchetti, P., Campieri, M., Kamm, M. A., Stagg, A. J. 2004. Modulation of human dendritic cell phenotype and function by probiotic bacteria. *Gut*. 53(11): 1602-1609.
<https://doi.org/10.1136/gut.2003.037325>
- Hernandez-Baixauli, J., Puigbò, P., Torrell, H., Palacios-Jordan, H., Ripoll, V., Caimari, A., Bas, J., Baselga-Escudero, L., Mulero, M., 2021. A pilot study for metabolic profiling of obesity-associated microbial gut dysbiosis in male Wistar rats. *Biomolecules*. 11(2): 303-325.
- Hernández-Hernández, J. C. 2018. Atlas de anatomía de los aparatos respiratorio, digestivo y urogenital de la rata Wistar. [Tesis de Licenciatura]. UNAM, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Cuautitlán Izcalli, México.
- Hooper, L., Macpherson, A. 2010. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Reviews Immunology*. 10: 159-169.
<https://doi.org/10.1038/nri2710>
- Icaza-Chávez, M. E. 2013. Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Revista de Gastroenterología de México*. 78: 240-248.
<https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2013.04.004>
- INEGI. 2022. Estadística de defunciones registradas de enero a junio de 2021 (preliminar).
<https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2022/dr/dr2021.pdf>
- Instituto Nacional del Cáncer. s.f. Definición de sarcopenia.
<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/sarcopenia>.
- Jašarević, E., Howerton, C. L., Howard, C. D., Bale, T. L. 2015. Alterations in the vaginal microbiome by maternal stress are associated with metabolic reprogramming of the offspring gut and brain. *Endocrinology*. 156: 3265–3276.
<https://doi.org/10.1210/en.2015-1177>
- Jasso-Padilla, I., Juárez-Flores, B., Alvarez-Fuentes, G., De la Cruz-Martínez, A., González-Ramírez, J., Moscota-Santillán, M., González-Chávez, M., Oros-Ovalle, C., Prell, F., Czermak, P., Martínez-Gutierrez, F. 2017. Effect of prebiotics of *Agave salmiana* fed to healthy Wistar rats. *Journal of Science and Food Agriculture*. 97: 556–563. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7764>
- Kabat-Koperska, J., Kolasa-Wołoskiuk, A., Wojciuk, B., Wojciechowska-Koszko, I., Roszkowska, P., Krasnodębska-Szponder, B., Paczkowska, E., Safranow, K., Gołembiewska, E., Machalinski, B., Ciechanowski, K. 2016. Changes in the immune system of female Wistar rats after exposure to immunosuppressive treatment during pregnancy. *Experimental Immunology*. 72: 70-111.
<https://doi.org/10.1111/sji.12434>
- Khare, S., DeLoid, G. M., Molina, R. M., Gokulan, K., Couvillion, S. P., Bloodsworth, K. J., Eder, E. K., Wong, A. R., Hoyt, D. W., Bramer, L. M., Metz, T. O., Thrall, B. D., Brian, J. D., Demokritou, P. 2020. Effects of ingested nanocellulose on intestinal microbiota and homeostasis in Wistar Han rats. *Nanoimpact*. 18: 100216. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2020.100216>
- King, W. Russell, S. 2006. Metabolic, traumatic, and miscellaneous diseases. En *The Laboratory Rat*, Suckow, M., Weisbroth, S., Franklin, C., eds., Academic Press, 2ª ed., pp. 513-549. Nueva York, EE. UU.

- Knauf, F., Brewer, J. R., Flavell, R. A. 2019. Immunity, microbiota and kidney disease. *Nature Reviews Nephrology*. 15(5): 263-274.
<https://doi.org/10.1038/s41581-019-0118-7>
- Korpela, K., 2018. Diet, microbiota, and metabolic health: Trade-Off between saccharolytic and proteolytic fermentation. *Annual Review of Food Science and Technology*. 9: 65–84. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012830>
- Kumar-Choudhary, A. Sheela-Devi, R. 2014. Imbalance of the oxidant-antioxidant status by aspartame in organs of immune system of Wistar albino rats. *Academic Journals*. 8(8): 229-230. <https://doi.org/10.5897/AJPP2013.3838>
- Li, R. 2014. Microbiome. En *Encyclopedia of Food Microbiology*. Batt, A., Tortorello, M., eds., Academic Press, 2ª ed., pp. 788-792. Nueva York, EE. UU.
- Liu, H., Wu, B., Pan, G., He, L., Li, Z., Fan, M., Jian, L., Chen, M., Wang, K., Huang, C. 2012. Metabolism and pharmacokinetics of mangiferin in conventional rats, pseudo-germ-free rats, and streptozotocin-induced diabetic rats. *Drugs Metabolism and Disposition*. 40(11): 2109-2118.
<https://doi.org/10.1124/dmd.112.045849>
- Lollo, P. C. B., Cruz, A. G., Morato, P. N., Moura, C. S., Carvalho-Silva, L. B., Oliveira, C. A. Faria, J. A. F., Amaya-Farfan, J. 2012. Probiotic cheese attenuates exercise-induced immune suppression in Wistar rats. *Journal of Dairy Science*. 95(7): 3549-3558.
- Longdet, I., Eyibo, A., Istifanus, G., Blessing, O., Bogolnaan, A., Denkok, Y. 2018. Determination of the effect of gum arabic on body 'weight'⁶⁸ and some biochemical parameters on albino Wistar rat. *European Journal of Nutrition & Food Safety*. 8(1): 14-19. <https://doi.org/10.9734/EJNFS/2018/37914>
- Lyte M. 2013. Microbial endocrinology in the microbiome-gut-brain axis: How bacterial production and utilization of neurochemicals influence behavior. *PLoS Pathogens*. 9(11): 1-4. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003726>
- Man, W. K., Tahirbegi, B., Vrettas, M. D., Preet, S., Ying, L., Vendruscolo, M., De Simone, A., Fusco, G. 2021. The docking of synaptic vesicles on the presynaptic membrane induced by α -synuclein is modulated by lipid composition. *Nature Communications*. 12(1): Article number 927.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-21027-4>
- Marques, C., Meireles, M., Norberto, S., Leite, J., Freitas, J., Pestana, D., Faria, A., Calhau, C. 2015. High-fat diet-induced obesity Rat model: A comparison between Wistar and Sprague Dawley rat. *Adipocyte*. 5: 1–11.
<https://doi.org/10.1080/21623945.2015.1061723>
- Márquez, M. G., Galeano, A., Olmos, S., Roux, M. E. 2000. Flow cytometric analysis of intestinal intraepithelial lymphocytes in a model of immunodeficiency in Wistar rats. *Cytometry*. 41(2): 115-22.
[https://doi.org/10.1002/1097-0320\(20001001\)41:2<115::AID-CYTO6>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1097-0320(20001001)41:2<115::AID-CYTO6>3.0.CO;2-5)

⁶⁸ *Weight* (peso) y *mass* (masa) no son sinónimos. El peso es una fuerza aplicada a los cuerpos y se mide en Newtons y la masa es una propiedad de los cuerpos y se mide en kilogramos

- Marrack, P., Kappler, J., Kotzin, B. L. 2001. Autoimmune disease: Why and where it occurs. *Nature Medicine*. 7(8): 899-905. <https://doi.org/10.1038/90935>
- Martin, R., Nauta, A., Ben Amor, K., Knippels, L., Knol, J., Garssen, J. 2010. Early life: Gut microbiota and immune development in infancy. *Beneficial Microbes*. 1(4): 367–382. <https://doi.org/10.3920/BM2010.0027>
- Massot-Cladera, M., Abril-Gil, M., Torres, S., Franch, À, Castell, M., Pérez-Cano, F. 2014. Impact of cocoa polyphenol extracts on the immune system and microbiota in two strains of young rats. *British Journal of Nutrition*. 112(12): 1944-1954. <https://doi.org/10.1017/S0007114514003080>
- Mayer, A., E., Tillisch K., Gupta, A. 2015. Gut/brain axis and the microbiota. *Journal of Clinical Investigation*. 125(3): 926-938. <https://doi.org/10.1172/JCI76304>.
- McCafferty, K., Byrne, C., Yaqoob, M. 2012. Intestinal microbiota determine severity of myocardial infarction in rats. *The Federation of American Societies of Experimental Biology Journal*. 26(11): 1-2. <https://doi.org/10.1096/fj.12-1102LTR>
- McLean, M. H., Dieguez, D., Miller, L. M., Young, H. A. 2015. Does the microbiota play a role in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Gut*. 64(2): 332-341. <http://dx.doi.org/10.1136/gutjnl-2014-308514>
- Messori, M. R., Oliveira, L. F. F., Foureaux, R. C., Taba Jr, M., Zangerônimo, M. G., Furlaneto, F. A. C., Pereira, L. J. 2013. Probiotic therapy reduces periodontal tissue destruction and improves the intestinal morphology in rats with ligature-induced periodontitis. *Journal of Periodontology*. 84(12): 1818- 1826. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.120644>
- Mihatsch, W. A., Braegger, C. P., Decsi, T., Kolacek, S., Lanzinger, H., Mayer, B., Moreno, L. A., Pohlandt, F., Puntis, J., Shamir, R., Stadtmüller, U., Szajewska, H., Turck, D., van Goudoever, J. B. 2011. Critical systematic review of the level of evidence for routine use of probiotics for reduction of mortality and prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in preterm infants. *Clinical Nutrition*. 31(1): 6-15. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2011.09.004>
- Morais, L. H., Schreiber, H. L., Mazmanian, S. K. 2021. The gut microbiota–brain axis in behaviour and brain disorders. *Nature Reviews Microbiology*. 19: 241-255. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00460-0>
- Moutinho, I., Bertges, L., Assis, R., 2007. Prolonged use of the food dye tartrazine (FD&C yellow n^o5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats. Brazil. *Journal of Biology*. 67(1): 141-145. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842007000100019>
- Nagpal, R., Yadav, H., Marotta, F. 2014. Gut microbiota: The next-gen frontier in preventive and therapeutic medicine? *Frontiers in Medicine*. 1: 1-15. <https://doi.org/10.3389/fmed.2014.00015>
- Neu, J., Reverte, C. M., Mackey, A. D., Liboni, K., Tuhacek-Tenace, L. M., Hatch, M., Li, N., Caicedo, R. A., Schatz, D. A., Atkinson, M. 2005. Changes in intestinal morphology and permeability in the biobreeding rat before the onset of type 1 diabetes. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 40(5): 589-595. <https://doi.org/10.1097/01.mpg.0000159636.19346.c1>
- Neyrinck, A., Possemiers, S., Verstraete, W., De Backer, F., Cani, P., Delzenne, N. 2012. Dietary modulation of clostridial cluster XIVa gut bacteria (*Roseburia*

- spp.*) by chitin-glucan fiber improves host metabolic alterations induced by high-fat diet in mice. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 23: 51-59.
<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2010.10.008>
- Noor, N. A., Fahmy, H. M., Mohammed, F. F., Elsayed, A. A., Radwan, N. M. 2015. *Nigella sativa* ameliorates inflammation and demyelination in the experimental autoimmune encephalomyelitis-induced Wistar rats. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 8(6): 6269-6286.
- O'Mahony, S. M., Felice, V. D., Nally, K., Savignac, H. M., Claesson, M. J., Scully, P., Woznicki, J., Hyland, N. P., Shanahan, F., Quigley, E. M., Marchesi, J., R., O'Toole, P. W., Dinan, T. G., Cryan, J. F. 2014. Disturbance of the gut microbiota in early-life selectively affects visceral pain in adulthood without impacting cognitive or anxiety-related behaviors in male rats. *Neuroscience*. 277: 885-901.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.07.054>
- OMS. 2020. Las 10 principales causas de defunción. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
- OMS. 2021. Hipertensión. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hypertension#:~:text=La%20hipertensi%C3%B3n%20\(o%20tensi%C3%B3n%20arterial,encefalopat%C3%ADas%2C%20nefropat%C3%ADas%20y%20otras%20enfermedades](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hypertension#:~:text=La%20hipertensi%C3%B3n%20(o%20tensi%C3%B3n%20arterial,encefalopat%C3%ADas%2C%20nefropat%C3%ADas%20y%20otras%20enfermedades).
- Opazo, M. C., Ortega-Rocha, E. M., Coronado-Arrázola, I., Bonifaz, L. C., Boudin, H., Neunlist, M., Bueno, S. M., Kalergis, A. M., Riedel, C. A. 2018. Intestinal microbiota influences non-intestinal related autoimmune diseases. *Frontiers in Microbiology*. 9 : Article ID 432. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00432>
- Palmnäs, M. S. A., Cowan, T. A., Bomhof, M. R., Su, J., Reimer, R. A., Vogel, H. J., Hittel, D. S., Shearer, J. 2014. Low-dose aspartame consumption differentially affects gut microbiota-host metabolic interactions in the diet-induced obese rat. *PLoS ONE*. 9(10): 1-12.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109841>
- Paule, A., Frezza, D., Edeas, M. 2018. Microbiota and phage therapy: future challenges in medicine. *Medical Sciences*. 6(4): 86.
<https://doi.org/10.3390/medsci6040086>
- Procuraduría Federal del Consumidor. 2021.
- Ramiro-Puig, E., Pérez-Cano, F. J., Ramos-Romero, S., Pérez-Berezo, T., Castellote, C., Permanyer, J., Franch, À., Izquierdo-Pulido, M., Castell, M. 2007. Intestinal immune system of young rats influenced by cocoa-enriched diet. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 19: 555-565.
<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2007.07.002>
- Rasool, R., Ullah, I., Shahid, S., Mubeen, B., Imam, S. S., Alshehri, S., Ghoneim M. M., Alzarea, S. I., Murtaza, B. N., Nadeem, M. S., Kazmi, I. 2022. *In vivo* assessment of the ameliorative impact of some medicinal plant extracts on lipopolysaccharide-induced multiple sclerosis in Wistar rats. *Molecules*. 27(5): 1608. <https://doi.org/10.3390/molecules27051608>
- Restrepo-Gallego, M. 2007. Sustitución de colorantes en alimentos. *Revista Lasallista de Investigación*. 4(1): 35-39.
- Reyes-Pavón, D. 2020. Efecto del glicomacropéptido, solo o combinado con *Lactobacillus rhamnosus*, sobre las alergias alimenticias en un modelo

- experimental. [Tesis doctoral]. Universidad Autónoma de Aguascalientes, Centro de Ciencias Básicas. Aguascalientes, México.
- Risdon, S., Meyer, G., Marziou, A., Riva, C., Roustit, M., Walther, G. 2020. Artificial sweeteners impair endothelial vascular reactivity: Preliminary results in rodents. *Nutrition Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 30: 843-846.
<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2020.01.014>
- Robles-Alonso, V., Guarner, F. 2013. Progreso en el conocimiento de la microbiota intestinal humana. *Revista Nutrición Hospitalaria*. 28: 553-557.
<https://dx.doi.org/10.3305/nh.2013.28.3.6601>
- Rodríguez-Ramírez, J. 2022. Estudio de las correlaciones de diversos parámetros fisiológicos y bioquímicos de ratas macho y hembra que consumieron de forma crónica edulcorantes calóricos e hipocalóricos durante 480 días. [Tesis de licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Ciudad de México, México.
- Ruiz-Iglesias, P., Estruel-Amades, S., Camps-Bossacoma, M., Massot-Cladera, M., Castell, M., Pérez-Cano, F. J. 2020. Alterations in the mucosal immune system by a chronic exhausting exercise in Wistar rats. *Scientific Reports*. 10(1): 1-14.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-74837-9>
- Salazar, N., López, P., Garrido, P., Moran, J., Cabello, E., Gueimonde, M., Suárez, A., González, C., de los Reyes-Gavilán, C., G., Ruas-Madiedo, P. 2014. Immune modulating capability of two exopolysaccharide-producing *bifidobacterium* strains in a Wistar rat model. *BioMed Research International*. 1: Article ID 106290.
<https://doi.org/10.1155/2014/106290>
- Sengupta, P., 2013. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *International Journal of Preventive Medicine*. 4(6): 624-630.
- Shanahan, F. 2001. Inflammatory bowel disease: Immunodiagnostics, immunotherapeutics, and ecotherapeutics. *Gastroenterology*. 120(3): 622-635.
<https://doi.org/10.1053/gast.2001.22122>
- Silveira, A. K., Moresco, K. S., Gomes, H. M., da Silva Morrone, M., Grun, L.K., Gelain, D.P., de Mattos Pereira, L., Giongo, A., Rodrigues de-Oliveira, R., Fonseca Moreira, J.C. 2018. Guarana (*Paullinia cupana* Mart.) alters gut microbiota and modulates redox status, partially via caffeine in Wistar rats. *Phytotherapy Research*. 32(12): 2466-2474. <https://doi.org/10.1002/ptr.6185>
- Stilling, R. M., Van de Wouw, M., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., Cryan, J. F. 2016. The neuropharmacology of butyrate: The bread and butter of the microbiota-gut-brain axis? *Neurochemistry International*. 99: 110-132.
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2016.06.011>
- Stojanov, S., Berlec, A., Štrukelj, B. 2020. The influence of probiotics on the *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio in the treatment of obesity and inflammatory bowel disease. *Microorganisms*. 8(11): 1-16.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8111715>
- Strachan, D.P. 2000. Family size, infection and atopy: The first decade of the "higiene hypothesis". *Thorax*. 55(1): 2-10.
https://doi.org/10.1136/thorax.55.suppl_1.s2
- Sueyoshi, M., Fukunaga, M., Mei, M., Nakajima, A., Tanaka, G., Murase, T., Narita, Y., Hirata, S., Kadowaki, D. 2019. Effects of lactulose on renal function and gut microbiota in adenine-induced chronic kidney disease rats. *Clinical and*

- Experimental Nephrology. 23: 908-919. <https://doi.org/10.1007/s10157-019-01727-4>
- 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, Z., Segal, E., Elinav, E. 2014. Artificial sweeteners induce glucose intolerance by altering the gut microbiota. *Nature*. 514: 181–186. <https://doi.org/10.1038/nature13793>
- Thabane, M., Simunovic, M., Akhtar-Danesh, N., Garg, A. X., Clark, W. F., Collins, S. M., Salvadori, M., Marshall, J. K. 2010. An outbreak of acute bacterial gastroenteritis is associated with an increased incidence of irritable bowel syndrome in children. *The American Journal of Gastroenterology*. 105: 933- 939. <https://doi.org/10.1038/ajg.2010.74>
- Thomas, R., Jobin, C. 2019. Microbiota in pancreatic health and disease: The next frontier in microbiome research. *Nature reviews Gastroenterology and Hepatology*. 17(1): 53-64. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0242-7>
- Tlaskalová-Hogenová, H., Štěpánková, R., Kozáková, H., Hudcovic, T., Vannucci, L., Tučková, L., Rossmann, P., Hrnčíř, T., Kverka, M., Zakostelská, Z., Klimešová, K., Přibyllová, J., Bártová, J., Sanchez, D., Fundová, P., Borovská, D., Šrůtková, D., Zídek, Z., Schwarzer, M., Drastich, P., Funda, D. P. 2011. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cellular & Molecular Immunology*. 8(2): 110-120. <https://doi.org/10.1038/cmi.2010.67>
- Tochitani, S., Ikeno, T., Ito, T., Sakurai, A., Yamauchi, T., Matsuzaki, H. 2016. Administration of non-absorbable antibiotics to pregnant mice to perturb the maternal gut microbiota is associated with alterations in offspring behavior. *PLoS ONE*. 11: 1-22. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0138293>
- Torres-Castro, P., Grases-Pintó, B., Abril-Gil, M., Castell, M., Rodríguez-Lagunas, M., Pérez-Cano, F., Franch, A. 2018. TGF- β 2, EGF, and FGF21 Growth factors present in breast milk promote mesenteric lymph node lymphocytes maturation in suckling rats. *Nutrients*. 10(9): 1171. <https://doi.org/10.3390/nu10091171>
- Torres-Castro, P., Grases-Pintó, B., Abril-Gil, M., Castell, M., Rodríguez-Lagunas, M., Pérez-Cano, F., Franch, A. 2020. Modulation of the systemic immune response in suckling rats by breast milk TGF- β 2, EGF and FGF21 Supplementation. *Nutrients*. 12(6): 1888. <https://doi.org/10.3390/nu12061888>
- Vannucci, L., Stepankova, R., Kozakova, H., Fiserova, A., Rossmann, P., Tlaskalová-Hogenová, H. 2007. Colorectal carcinogenesis in germ-free and conventionally reared rats: Different intestinal environments affect the systemic immunity. *International Journal of Oncology*. 32: 609-617.
- Vargas-Miranda, B., Ambriz-García, D., Navarro-Maldonado, M., Trejo-Córdova, A., Rodríguez-Esquivel, G., González-Vieira, M. 2018. *Manejo de animales del bioterio de la UAM-I*. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. Ciudad de México, México.

- Vasantharaja, D., Ramalingam, V., Aadinaath-Redy, G. 2014. Oral toxic exposure of titanium dioxide nanoparticles on serum biochemical changes in adult male Wistar rats. *Nanomedicine Journal*. 2(1): 46-53.
- Verdu, E. F., Bercik, P., Huang, X. X., Lu, J., Al-Mutawaly, N., Sakai, H., Tompkins, T. A., Croitoru, K., Tsuchida, E., Perdue, M., Collins, S. M. 2008. The role of luminal factors in the recovery of gastric function and behavioral changes after chronic *Helicobacter pylori* infection. *American Journal of Physiology Gastrointest Liver Physiology*. 295: G664-G670.
<https://doi.org/10.1152/ajpgi.90316.2008>
- Vicente, C. 2018. Estructura química de la goma arábica.
https://www.researchgate.net/figure/Estructura-quimica-de-la-goma-arabiga_fig5_324769211.
- Wang, C., Hou, Y., Lv, Y., Chen, S., Zhou, X., Zhu, R., Wang, J., Jia, W., Wang, X. 2017. *Echinacea purpurea* extract affects the immune system, global metabolome, and gut microbiome in Wistar rats. *Journal of Agricultural Science*. 9(4): 1-14. <https://doi.org/10.5539/jas.v9n4p1>
- Wang, F., 2018. The roles of preventive and curative health care in economic development. *Public Library Of Science ONE*. 13(11): 1-12.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206808>
- Wang, J., Eltoum, I., Lamartiniere, C., 2001. Dietary genistein suppresses chemically induced prostate cancer in Lobund–Wistar rats. *Cancer Letters*. 186(1): 11-18.
[https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(01\)00811-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(01)00811-4)
- Wopara, I., Uwaezuoke, C. A., Ike, A. 2019. The effect of some synthetic food colorants on selected biochemical indices of male Wistar rats. *European Journal of Nutrition and Food Safety*. 10(29): 149-155.
<https://doi.org/10.9734/ejnfs/2019/v10i230107>
- Wu, Y., Y., Qiao, B., Zhang, Q., Jia, W., Q., Meng, H., Xing, H., J., Li, Y., Q., Yang, Z., S., Yuan, J., L., 2021. Yifei Sanjie Formula Treats Chronic Obstructive Pulmonary Disease by Regulating Lung Microbiota. *Dysbiosis. Research Square*. 1(1): 1-19. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.927607>
- Wu, Z., X., Li, S., F., Chen, H., Song, J., X., Gao, Y., F., Zhang, F., Cao, C.F. 2017. The changes of gut microbiota after acute myocardial infarction in rats. *Plos ONE*. 12(7): 1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180717>
- Xin, F., Takemitsu, M., Atsuta, Y., 2001. Effect of vitamin K2 on lumbar vertebral bone: Histomorphometric analyses in experimental osteoporotic rats. *Journal of Orthopaedic Science*. 6(1): 535-539. <https://doi.org/10.1007/s007760100009>
- Xu, H., Liu, M., Cao, J., Li, X., Fan, D., Xia, Y., Lu, X., Li, J., Ju, D., Zhao, H. 2019. The dynamic interplay between the gut microbiota and autoimmune diseases. *Journal of Immunology Research*. 1: Article ID 7546047.
<https://doi.org/10.1155/2019/7546047>
- Yakubu, M., Afolavan, A. 2008. Effect of aqueous extract of *Bulbine natalensis* Baker stem on haematological and serum lipid profile of male Wistar rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 47: 283-288.
- Zhao, L., Zhang, Q., Ma, W., Tian, F., Shen, H., Zhou, M. 2017. A combination of quercetin and resveratrol reduces obesity in high-fat diet-fed rats by modulation of gut microbiota. *The Royal Society of Chemistry*. 8: 1-22.

Zheng, D., Liwinski, T., Elinav, E., 2020. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research*. 30: 492-506.
<https://doi.org/10.1038/s41422-020-0332-7>