



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE PSICOLOGÍA**

**EFFECTO DEL ESTILO DE VIDA EN LAS REDES DE MICROBIOTA  
INTESTINAL INFANTIL Y EN GÉNEROS BACTERIANOS  
RELACIONADOS A TRASTORNOS MENTALES**

**PROYECTO DE TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**LICENCIADO EN PSICOLOGÍA**

**PRESENTA**

**JONATHAN MICHELL DOMÍNGUEZ SÁNCHEZ**

**DIRECTOR: DR. ISAAC GONZÁLEZ SANTOYO**

**REVISORA: DRA. OLGA RAMOS ROJAS**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. 2024**



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.

## Índice

Resumen	4
Abstract	5
Introducción	6
Marco Teórico	11
Estilo de Vida Industrializado y No-Industrializado	11
Efecto del Estilo de Vida en la Composición de la Microbiota Intestinal.	13
La Vital Influencia de la Microbiota Intestinal en el Neurodesarrollo.	19
Análisis de Redes Microbianas como Herramienta para el Estudio de su Robustez.	23
Justificación	29
Objetivos e Hipótesis	31
Metodología	33
Población	33
Determinación Taxonómica de la MI	34
Análisis de Redes y sus Diferencias entre Poblaciones	35
Resultados	39
Comparación de las Abundancias Relativas de los GRTM.	39
Comparación de las Redes Generales.	40
Parámetros de Conectividad de las Redes Generales de MI	41
Comparación de la Topología de las Subredes de los GRTM.	42
Discusión	47
Referencias	53

## Dedicatoria

**A Andy** - Tu amor cambió todo en mi vida; con tu cariño hiciste que quisiera mejorar para darte la mejor versión de mí; con tu sonrisa me enseñaste a disfrutar cada momento; con tu voz calmaste mi alma; en tus ojos vi el futuro que quiero a tu lado; en tu alma encuentre la verdadera definición de amor.

**A Ma' y Pa'** - Cada día me siento orgulloso de ser su hijo. No puedo creer el esfuerzo inhumano que dieron para criarme con tanto amor y paciencia. Daría lo que fuera para que en cada una de mis vidas tenga la fortuna de tenerlos a ustedes como mi madre y padre.

**A mi Tía O y Papá I** - Su apoyo incondicional y el cariño constante fueron lo que me nutrieron desde que era un niño, siempre me motivaron a conseguir todo lo que quisiera

**A Isaac y Olga** - Por creer en esta idea y en su estudiante, al igual que otorgarme todo el conocimiento necesario para no darme por vencido, son un ejemplo a seguir

**A mis hermanos** - Por todas las memorias y demostrarme que a pesar de la distancia siempre me siento protegido por ustedes

**A Carlos** - Por tanto años en el que más que un amigo, fuiste un hermano; mereces todo el éxito y amor que infundes en las personas que te rodean

**A Carolina** - No permitiste que renunciara a mis sueños y siempre serás parte de mi alma; a diario te deseo a ti y a tu familia el doble de la felicidad que lograste darme

**A Melissa** - Agradezco al destino por conocerte en esta vida y nunca podré agradecerte lo suficiente todo lo que me enseñaste para disfrutar el vivir

**A Nego** - Por todas las madrugadas que me acompañaste y me abrigaste con tu pelaje

**A Santiago** - Por todo lo que me enseñaste y ayudaste para entender todos estos temas

**A Sci-Hub** - Sin esta herramienta, este escrito no hubiera existido

**A Maeli** - Desearía que hubieras podido leer esto

## Resumen

La microbiota intestinal (MI) está sujeta a cambios en su composición en función de decenas de variables propias del estilo de vida del huésped. A lo largo del mundo podemos encontrar dos estilos de vida contrastantes: el estilo de vida industrializado (EVI) en población urbana y el estilo de vida no-industrializado (EVNI) principalmente asociado con poblaciones indígenas o rurales. Cada estilo de vida tiene prácticas socioculturales que modifican diferencialmente la composición de la MI. En años recientes, se ha encontrado que la composición de la MI podría ser un indicador del riesgo de aparición de una gran gama de trastornos mentales. Existe evidencia para catalogar a *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium* como géneros relacionados a trastornos mentales (GRTM), debido a que la baja abundancia de *Coprococcus* y *Faecalibacterium*, y la abundancia enriquecida de *Eggerthella* en la MI aumenta el riesgo de ciertas psicopatologías. El primer objetivo de este estudio fue analizar el efecto que tiene el estilo de vida en la abundancia de los GRTM en 18 infantes indígenas (EVNI, 7 niñas y 9 niños) y 13 infantes habitantes de la Ciudad de México (EVI, 4 niños y 9 niñas). Encontramos una mayor abundancia de los géneros *Coprococcus* ( $t= 4.547$ ,  $p < 0.001$ ) y *Faecalibacterium* ( $t= 2.142$ ,  $p= 0.039$ ) en población con EVI en comparación con el EVNI. Posteriormente se usó análisis de redes para comparar las redes microbianas entre estos estilos de vida. A nivel de redes generales, encontramos que su estructura es 30 % diferente entre los estilos de vida. Sin embargo, encontramos diferencias marginales en términos de su conectividad. Finalmente, enfocamos el análisis de la topología de las subredes de los GRTM. Las subredes de *Coprococcus* y *Faecalibacterium* son 27 y 31 % diferentes respectivamente entre los estilos de vida. Específicamente, la subred de *Coprococcus* tiene menor densidad y mayor centralidad de su subred en el EVI en comparación con las subred del EVNI. Estos resultados indican que el estilo de vida es un factor importante en la abundancia de los GRTM, mientras que el EVI propicia una baja robustez de la subred de *Coprococcus*. Este estudio resalta la importancia de la aplicación de análisis de redes al ligar grupos bacterianos con el riesgo de alguna psicopatología.

## Abstract

The intestinal microbiota (MI) is subject to changes in its composition depending on dozens of variables specific to the host's lifestyle. Throughout the world we can find two contrasting lifestyles: the industrialized lifestyle (EVI) in the urban population and the non-industrialized lifestyle (EVNI) mainly associated with indigenous or rural populations. Each lifestyle has sociocultural practices that differentially modify the composition of the MI. In recent years, it has been found that MI composition could be an indicator of the risk of the onset of a wide range of mental disorders. There is evidence to classify *Coprococcus*, *Eggerthella* and *Faecalibacterium* as genera related to mental disorders (GRTM), because the low abundance of *Coprococcus* and *Faecalibacterium*, and the enriched abundance of *Eggerthella* in IM increases the risk of certain psychopathologies. The first objective of this study was to analyze the effect that lifestyle has on the abundance of GRTM in 18 indigenous infants (EVNI, 7 girls and 9 boys) and 13 infants living in Mexico City (EVI, 4 boys and 9 girls). We found a greater abundance of the genera *Coprococcus* ( $t= 4.547$ ,  $p < 0.001$ ) and *Faecalibacterium* ( $t= 2.142$ ,  $p= 0.039$ ) in the EVI population compared to the EVNI. Network analysis was then used to compare microbial networks between these lifestyles. At the level of general networks, we find that their structure is 30% different between lifestyles. However, we found marginal differences in terms of their connectivity. Finally, we focus on the analysis of the topology of the GRTM subnetworks. The *Coprococcus* and *Faecalibacterium* subnetworks are 27 and 31% different respectively between lifestyles. Specifically, the *Coprococcus* subnetwork has lower network density and higher centrality in the EVI compared to the EVNI subnetworks. These results indicate that lifestyle is an important factor in the abundance of GRTMs, while the EVI promotes a low robustness of the *Coprococcus* subnetwork. This study highlights the importance of applying network analysis when linking bacterial groups with the risk of some psychopathology.

## Introducción

Cada decisión que tomamos en nuestro estilo de vida, desde el alimento que ingerimos, hasta la mínima acción que realizamos, afectan la fisiología de nuestro cuerpo. Por otro lado, el entorno en que vivimos nos dará el acceso a ciertos recursos o nos expondrá a estresores de diferente origen. Es entonces que el ambiente y sus habitantes son parte de un mismo sistema, por lo que nuestra conducta será resultado de miles de variables que nos rodean. Nuestro estilo de vida se construirá en relación a la posición geográfica, la economía, cultura y políticas públicas del país en que nacemos, al igual que el estatus socioeconómico en el que vive nuestra familia, por nombrar algunos factores generales. Existen miles de configuraciones que determinan individualmente ciertos estilos de vida, sin embargo, podemos encontrar a lo largo del mundo dos bloques definidos: industrializado y no-industrializado (Olm et al., 2020). Generalizando sobre las prácticas alimentarias, la dieta del estilo de vida industrializado (EVI), se caracteriza por un gran consumo de proteínas animales, productos procesados con alto contenido calórico y la lactancia materna se comparte con el uso de fórmulas lácteas. En comparación, el estilo de vida no-industrializado (EVNI), que usualmente tiene menor acceso a proteínas animales, basa su dieta principalmente en productos como frutas, vegetales y cereales obtenidos de la agricultura local, el consumo de los productos ultraprocesados son nulos y se limita el uso de fórmulas lácteas para la lactancia (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición [ENSANUT], 2018; Olm et al., 2020). En relación a otras prácticas en la que difieren estos estilos de vida, el EVI tiene un mayor uso de medicamentos alopáticos como antibióticos, gran higiene a lo largo de la vida cotidiana y gran exposición a contaminación ambiental, prácticas casi nulas en el EVNI (Carrera-Bastos et al., 2011; Lipski, 2010; Lyytimäki et al., 2008; Sánchez-Quinto et al., 2020). Todas las prácticas mencionadas tienen un efecto directo en la salud de cada persona, ya sea para obtener calorías y nutrientes o el riesgo al desarrollo de enfermedades. Es en las últimas décadas, que se ha descubierto que una de las influencias más importantes que tiene el estilo de vida en nuestra salud también radica en su capacidad para modificar la composición de los millones

de bacterias que nos acompañan dentro y fuera de nuestro cuerpo diariamente.

Se le define como microbiota al conjunto de microorganismos que habitan un área definida, pero la más estudiada es la microbiota intestinal (MI) y de esta, son las bacterias el grupo más diverso y estudiado, ya que su actividad como microecosistema resulta en decenas de funciones vitales. Es en las últimas décadas, que se ha acumulado evidencia de la importancia vital de la MI en la salud del huésped incluso siendo un elemento importante en la salud cerebral (Clemente et al., 2012; Marchesi y Ravel, 2015; Valles-Colomer, 2019). Los productos del metabolismo de los alimentos que cada nicho bacteriano le da al cuerpo del huésped son miles de compuestos y recursos necesarios para el correcto funcionamiento sistémico del huésped (Clemente et al., 2012; Marchesi y Ravel, 2015; Rojo et al., 2017; Sender et al., 2016; Valles-Colomer, 2019). En la MI, comienza la prevalencia de ciertas bacterias y la diversificación bacteriana desde el nacimiento del huésped (Arrieta et al., 2014; Faith et al., 2013) y su diversidad, abundancia y maduración dependen principalmente de las prácticas socioculturales y ambientales en los estilos de vida (Koenig et al., 2011). La edad infantil es el periodo en el que esta relación simbiótica MI-Huésped, alcanza su madurez (Goyal et al., 2015; Koenig et al., 2011). Es en este período que la MI aporta recursos importantes para un correcto funcionamiento cerebral. Por ejemplo, se ha establecido, mediante modelos experimentales murinos, que sin la MI, el cerebro no podría tener un desarrollo neurotípico, promoviendo la aparición de ciertos trastornos mentales (Chu et al., 2019). Por otro lado, se ha encontrado que la MI de una persona diagnosticada con depresión, es suficiente para provocar síntomas depresivos cuando es trasplantada a un nuevo huésped murino (Kelly et al., 2016; Zheng et al., 2016). Asimismo, recientemente, en una meta-análisis se encontró que la disminución en la abundancia de *Coprococcus* y *Faecalibacterium*, y la abundancia enriquecida de *Eggerthella* son composiciones de la MI que se compartieron consistentemente entre pacientes con depresión, trastorno bipolar, psicosis, esquizofrenia y ansiedad (Nikolova et al, 2021). Se ha estipulado que esta relación de la composición microbiana con el riesgo de aparición de psicopatologías se debe a la



interacción que tienen los cambios microbianos en la MI con la activación de una respuesta inmunológica proinflamatoria a lo largo del cuerpo (Ouabbou et al., 2020). Debido a estas fuertes asociaciones, se puede pensar que la MI es un elemento clave en el estudio y tratamiento de las psicopatologías anteriormente mencionadas, por lo que es necesario enfocar recursos e investigación para determinar el papel que juega en el desarrollo de dichas enfermedades.

Como se ha mencionado, la composición de la MI depende del estilo de vida y en conjunto podrían determinar grandes rasgos de la salud mental de la persona. Sin embargo, se ha explorado poco sobre las diferencias en la composición de géneros importantes para la salud entre población con EVI y EVNI. El estudio de Sánchez-Quinto y colaboradores (2020), ilustra de forma clara el efecto del estilo de vida en edad infantil sobre la ecología microbiana del MI. En este estudio, se compararon las abundancias relativas de las especies bacterianas de la MI, entre niñas y niños provenientes de la Ciudad de México y de comunidades indígenas Me'Phaa del estado de Guerrero. La Ciudad de México es una de las urbes más pobladas del mundo, con un alto consumo de alimentos ultraprocesados y un alto índice de obesidad infantil (ENSANUT, 2018) siendo un ejemplo claro del EVI. Por otro lado, las comunidades indígenas Me'Phaa de Guerrero son pequeñas comunidades de EVNI, con un alto índice de natalidad por familia, parto natural en todos los alumbramientos, y prácticas alimentarias distintas a las grandes urbes, tales como la prevalencia de lactancia materna, poco o nulo consumo de proteínas animales y poco acceso a sistemas de purificación de agua (Sánchez-Quinto et al., 2020). Se encontró que la población infantil indígena presentó mayor riqueza y diversidad en su MI, así mismo, cada estilo de vida presentaba bacterias exclusivas que no se compartían entre poblaciones. Esto es importante, ya que la MI en la población de la ciudad comienza a reflejar una baja diversidad desde edades infantiles. A nivel de género y familia, cada estilo de vida presentó diferencias en su abundancia. De manera puntual, entre estas diferencias, se reporta que existe un mayor número de especies de los géneros *Coprococcus* y *Faecalibacterium* en la MI del EVNI que no presentan en el EVI. Sin embargo, no se realizó una

comparación de la abundancia relativa de cada género entre estilos de vida. Con base en estos hallazgos, el primer objetivo de la presente tesis fue evaluar si estos dos estilos de vida afectan la abundancia de los tres géneros relacionados a trastornos mentales como son *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium*.

La MI es un sistema biológico dinámico, aun en sus etapas maduras. Esto significa que la MI en cualquiera de sus etapas de desarrollo será sensible a variables ambientales que puedan generar un grado de entropía o perturbación durante un tiempo determinado (Hildebrand et al., 2021; Rojo et al., 2017). La abundancia de cada especie está en constante cambio, por lo que a lo largo de la vida de cada persona la abundancia a nivel género o familia fluctúa y no es estática. El análisis de la composición de la MI en una etapa de la vida solo es una “fotografía” de toda su historia. Aunado a lo anterior, se ha encontrado que la medición única de la abundancia microbiana no es un biomarcador que pueda representar la interacción ecológica entre las especies microbianas (Karimi et al., 2017). Debido a esto, no solo es necesaria la medición de la abundancia microbiana, sino implementar el análisis de la intercomunicación bacteria-bacteria, las cuales se pueden modelar como una red de interacción. La MI se encuentra en un proceso constante de organización, producto de las múltiples variables que afectan al huésped. El análisis de la topología de redes permite modelar la forma en la que cada parte de todo un sistema se organiza y comunica, siendo la conectividad total de la red una aproximación de la medida de su robustez (Karimi et al., 2017; Pavlopoulos et al., 2011). Se puede analizar si la conectividad de la red es fuerte o podría interrumpirse si se introduce una variable aleatoria que elimine algún elemento o su interacción, es decir, su robustez (Iyer et al., 2013; Kim y Anderson, 2013; Karimi et al., 2017; Martin y Niemeyer, 2021). Si una red presenta elementos que captan la mayor parte de la conectividad, la estabilidad de la red dependerá exclusivamente de su presencia. Cuando la conectividad de toda una red depende de un número reducido de sus elementos, se dice que tiene una gran centralidad (Karimi et al., 2017; Pavlopoulos et al., 2011). Una gran centralidad está relacionada a que una red sea menos robusta

y pueda colapsar en cualquier tipo de perturbación (Iyer et al., 2013; Kim y Anderson, 2013; Watts, 2002). Un grupo bacteriano con una menor conectividad o robustez ante una perturbación tendrá una mayor probabilidad de colapsar (Layeghifard et al., 2017). Lo anterior fomentará que el tipo de servicios ecosistémicos que la MI le ofrece al huésped sean menos consistentes o se restablezcan más lentamente, lo que resultaría en un estado de salud desfavorable para el huésped (Bauer et al., 2018; Layeghifard et al., 2017; Rojo et al., 2017). A esta pérdida de las funciones e inestabilidad de la MI se le conoce como disbiosis, un término que hasta el momento se considera únicamente como una idea teórica que alude a un estado patofisiológico del huésped promovido por esta baja robustez de la MI (Bauer et al., 2018; Rojo et al., 2017). A pesar de que al momento no existe un consenso científico para cuantificar objetivamente estas cualidades de un sistema biológico como la MI, con la interacción de miles de bacterias entre sí y su huésped, se ha propuesto que se requiere de herramientas como la teoría de redes para evaluar este tipo de sistemas complejos (Iyer et al., 2013; Kim y Anderson, 2013; Martin y Niemeyer, 2021). El uso de análisis de redes promueve entender a la MI como un ente completo en la que es más que la suma de las abundancias de cada especie.

Es por lo anterior, que resulta necesario analizar la conectividad de las redes de la MI de cada estilo de vida, lo cual es imposible mediante la cuantificación exclusiva de abundancias bacterianas. Por lo tanto, el segundo objetivo de este estudio fue evaluar las diferencias en la conectividad de las redes generales de la MI de niñas y niños habitantes de la Ciudad de México con EVI, en comparación con indígenas Me'phaa con EVNI. Finalmente, estos atributos de conectividad se pueden también evaluar en subredes de grupos particulares que conforman esta MI, y que están asociados a la salud del huésped. Por ende, el tercer objetivo se enfocó en la evaluación de las diferencias de la conectividad entre estos estilos de vida en las subredes de los géneros *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium*.

## Marco Teórico

### Estilo de Vida Industrializado y No-Industrializado

Desde que nacemos, el estilo de vida de la familia con quién nos desarrollamos tiene una influencia directa en nuestra salud. Entre las múltiples variables que nos pueden afectar desde el nacimiento se encuentra el estatus socioeconómico (que determina el acceso a recursos o tratamiento de enfermedades, exposición a estresores o patógenos, entre otros), la ubicación geográfica (incluido el país de origen, su economía y políticas públicas) y la cultura que adoptamos, las cuales determinarán una gran gama de conductas o hábitos (Carrera-Bastos et al., 2011; Lipski, 2010; Lyttimäki et al., 2008). Podemos encontrar una clara distinción entre el estilo de vida que se adopta en las grandes urbes y las zonas alejadas de éstas. La globalización ha logrado la urbanización e industrialización exponencial de territorios a lo largo del planeta, por lo que, a lo largo de su extensión, la población que ahí habita va adoptando los hábitos alimenticios y culturales típicos de las urbes. A lo largo del mundo, es común observar una expansión urbana cada vez más acelerada, pero cada país presenta puede presentar comunidades con poca o nula urbanización, con hábitos que asemejan a épocas preindustriales de agroforestería a baja escala e incluso de caza y recolección (Carrera- Bastos et al., 2011; Lipski, 2010; Lyttimäki et al., 2008). Olm y colaboradores (2022) proponen al conjunto de costumbres de estas poblaciones tan contrastantes como un estilo de vida industrializado (EVI) para la población perteneciente a urbes, y estilo de vida no-industrializado (EVNI) para la población indígena o rural con alto grado de aislamiento post-industrial o de caza- recolección con sistemas de producción de subsistencia.

Las prácticas sociales y culturales del EVI y EVNI alrededor del mundo son muy variadas. Aunque existen cambios en la dieta y acceso a recursos en función de la ubicación geográfica (Carrera-Bastos et al., 2011; Lipski, 2010; Olm et al., 2022; Lyttimäki et al., 2008), cada tipo de estilo de vida tiene características compartidas en cualquier región alrededor del mundo. El EVI comúnmente es

mencionado en la literatura junto al consumo de la dieta “occidental” (Carrera- Bastos et al., 2011), caracterizada por el alto consumo de alimentos con carbohidratos de alto índice glucémico como los cereales refinados, maíz, papas y azúcares (en particular, sacarosa y fructosa), productos lácteos, altas cantidades de grasa (en especial grasas poliinsaturadas) y cantidades sustanciales de proteína animal (Boyd et al., 2021; Hold, 2014; Kopp, 2019; Statovci et al., 2017). A diferencia de una dieta occidentalizada, la dieta del estilo de EVNI presenta un alto gran consumo de fibras, vitaminas y minerales esenciales, debido a que la dieta se basa principalmente en el consumo de productos naturales cosechados en la región (Hold, 2014; Statovci et al., 2017). Sobre lactancia materna, niñas y niños de urbes tienen un menor consumo de leche materna y una mayor ingesta de fórmula láctea, además de un exceso de consumo de alimentos procesados y ultracalóricos, en comparación con infantes de ENVI (ENSANUT, 2018). Además de estas características del EVI, también se le asocia con un mejor sistema de salud pública, con acceso a medicamentos alopáticos (con gran uso de antibióticos, Brushett et al., 2020), al igual que mayor acceso a agua purificada y una alta exposición a contaminación ambiental (Lyytimäki et al., 2008).

Hay mucha evidencia de que el EVI está acompañado de una gran gama de enfermedades crónicas degenerativas no infecciosas que tiene poca prevalencia en poblaciones no-industrializadas, denominadas "enfermedades de la civilización", tal es el caso de la obesidad, la diabetes, las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, las enfermedades autoinmunes y la enfermedad de Alzheimer (Holly et al., 2020; Kopp, 2019; Lipski, 2010). Existe un creciente consenso de que esta diferencia en la prevalencia en enfermedades puede asociarse principalmente con los cambios y efectos en la adopción de la dieta occidental (Boyd et al., 2021; David et al., 2014; Hold, 2014; Holly et al., 2020; Kopp, 2019; Lipski, 2010).

Otras prácticas del EVI también tienen repercusiones en la salud mental del individuo, ya que se ha correlacionado un alto uso de antibióticos en el primer año de vida con afectaciones neurocognitivas

y al riesgo de depresión (Slykerman et al., 2017). En un estudio reciente con ratones, se encontró que el uso de antibióticos perinatales provoca afectaciones en la activación de genes involucrados en la diferenciación y organización neuronal en el lóbulo frontal y la amígdala, regiones las cuales están relacionadas con funciones cognitivas y emocionales (Volkova et al., 2021). En cuanto a las prácticas más asociadas al EVNI, tales como la lactancia materna más prolongada, se ha encontrado que ésta predice un mejor desarrollo y desempeño cognitivo en los infantes, así como un efecto neuroprotector contra la depresión posparto, esto último explicado por el establecimiento de lazos afectivos más consistentes entre la madre y el bebé (Hardin et al., 2021; Lopez et al., 2021). En relación al medioambiente, se ha confirmado que la exposición a contaminación ambiental (agentes tóxicos gaseosos derivados de la quema de combustibles fósiles o desechos de fábricas) incrementa la posibilidad de desarrollar deterioro cognitivo temprano y hasta enfermedades mentales (Patten et al., 2021; Reuben et al., 2021). Estas afectaciones se pueden comenzar a desarrollar antes de nacer mediante la exposición prenatal a la polución (Margolis et al., 2021). Crecer en un ambiente urbanizado o industrializado tiene riesgos directos en la población debido a la exposición a una gran cantidad de variables detonantes de patofisiologías.

### **Efecto del Estilo de Vida en la Composición de la Microbiota Intestinal.**

Una de las características que se le atribuye al EVI es la práctica de una gran higienización de las viviendas y en la vida diaria, lo que reduce o anula la exposición a microorganismos, limitando con ello la incorporación de nuevas especies bacterianas u otros organismos en la persona. Se introduce así la “hipótesis de la higiene”, propuesta en los años 80 con base en estudios epidemiológicos y que estipula que el reducido contacto con microorganismos provoca un desorden inmunológico que tiene como resultado la prevalencia de enfermedades inmunomediadas (Prokopakis et al., 2013; Stiemsma et al., 2015). El sustento a esta hipótesis, ha venido creciendo año con año gracias a los avances en investigación sobre el papel que tiene las bacterias en la salud del huésped, donde se resalta desde el

nacimiento hasta la adolescencia como la ventana crítica para corregir los problemas derivados del exceso de higiene, previniendo el desarrollo de enfermedades en edades adultas (Stiemsma et al., 2015).

Cada día convivimos con millones de comunidades de microorganismos que habitan dentro de nosotros y nos acompañan cotidianamente. Se le define como microbiota al conjunto de microorganismos en un área definida, los cuales habitan en prácticamente todo nuestro cuerpo y pueden comprender bacterias, hongos, arqueas, algunos organismos eucariotas y virus (Marchesi y Ravel, 2015). La importancia de las microbiotas sobre la salud del huésped había pasado desapercibida durante gran parte del siglo pasado. Es en las últimas décadas, debido en gran parte al avance en técnicas de secuenciación genómica, que existe evidencia de la vital importancia de la microbiota intestinal (MI) en el estado de salud, proponiendo incluso que de ésta depende el posible desarrollo de una gran cantidad de enfermedades, incluyendo aquellas asociadas al sistema nervioso (Clemente et al., 2012; Marchesi y Ravel, 2015; Valles-Colomer, 2019).

El intestino es el espacio en el cuerpo humano que más microorganismos alberga, siendo las bacterias las de mayor abundancia y diversidad. Algunas estimaciones recientes indican que el número total de bacterias en el colon (con base en un "hombre de referencia", de 70 kilos, 1.70 metros de altura, 20-30 años de edad) es  $3.8 \times 10^{13}$ , con una proporción de 1:1 con las células humanas (Sender et al., 2016). En promedio, cualquier persona alberga entre 1000 y 1150 especies bacterianas prevalentes (Qin et al., 2016). Entre las principales funciones de la MI se encuentran el metabolismo de carbohidratos, participación en la producción y almacenamiento de energía, la síntesis de componentes celulares, desarrollo y maduración del sistema inmunitario, metabolismo de fármacos, mantenimiento de la pared intestinal, comunicación química con el SNC, entre otras (Gosalbes et al., 2011; Partida-Rodriguez et al., 2017; Sonnenburg y Sonnenburg, 2019). Estas funciones están mediadas por diferentes nichos o grupos bacterianos con funciones específicas, por lo que una de las perspectivas en la investigación de la MI sería identificar grupos bacterianos clave como biomarcadores en la salud humana (Mancabelli et al.,

2017; Rüb et al., 2021; Yang et al., 2018).

La colonización microbiana intestinal comienza al nacer y la riqueza de múltiples especies crece exponencialmente durante aproximadamente los primeros 3 años (Arrieta et al., 2014). Durante este periodo, la MI es muy sensible a cambios debidos a factores socioambientales (Koening et al., 2011). Por ejemplo, variables relacionadas con la concepción, tales como el modo de parto, exposición a antibióticos, composición de la microbiota vaginal de la madre, prematuridad, entre otros, así como a factores postnatales, tales como la introducción a comida sólida, contaminación ambiental, exposición a productos de limpieza, contacto con mascotas, infecciones tempranas, etc. (Arbolea et al., 2015; Bokulich et al., 2016; David et al., 2014; Domínguez-Bello et al., 2010; Du et al., 2021; Gardner et al., 2020; Guaraldi y Salvatori, 2012; Korpela y de Vos, 2016; Laursen et al., 2016; Radjabzadeh et al., 2020; Rodríguez et al., 2015; van Best et al., 2015). Es importante hacer mención de la influencia que tiene la familia y las microbiotas que habitan en cada uno de sus integrantes en la formación de la composición de la MI de una persona recién nacida. Además de la primera fase de colonización, brindada por la madre, el contacto con el padre (o cuidador temprano) y familiares con los que se comparte la vivienda, promoverá que la persona recién nacida adquiera una gran cantidad de bacterias compartidas que colonizarán su intestino debido a la exposición diaria a las diferentes microbiotas de las personas a su alrededor (Faith et al., 2013). Recientemente, se ha revisado el papel que tiene las hormonas sexuales en la composición de la MI, ya que, a pesar que es necesaria más evidencia y estudios longitudinales, se ha encontrado una modesta diferencia en la abundancia de ciertas especies entre sexos (Jašarević et al., 2016). Así pues, los hábitos y estilo de vida de la familia con la que una persona nace, tendrán una gran relevancia en la composición de su MI a lo largo de su crecimiento. Comprender los cambios en la MI en función al ambiente en que se desarrolla una persona y sus posibles efectos en la salud, permitiría determinar al estilo de vida como predictor del estado de salud del individuo, tanto en etapas tempranas como en su adultez. Por ejemplo, se ha encontrado que la composición bacteriana de la primera



evacuación de una persona recién nacida, puede ser un marcador para predecir el desarrollo de sobrepeso en la niñez, mediante la determinación de la abundancia relativa del filo *Bacteroidetes*, ya que a mayor abundancia del filo mayor riesgo de obesidad en los siguientes años (Korpela et al., 2020). Por otro lado, la colonización bacteriana del intestino en edades tempranas, provocará una adaptación inmune periférica que ayudará a evitar agentes patógenos, debido a la producción de antígenos bacterianos que provoca que bacterias ajenas a la composición microbiana sean eliminadas, resultando indirectamente que la MI sea resistente a cambios en su composición a lo largo de su maduración (Zegarra-Ruiz et al., 2021; Zheng et al., 2020). Gradualmente estas bacterias persistentes son seleccionadas en la MI hasta aproximadamente los 10 años, momento en el que alcanza una mayor estabilidad (Hildebrand et al., 2021).

Un desafío adicional en el estudio de la MI es identificar las bacterias "beneficiosas" para el huésped y, por lo tanto, importantes de buscar conservar con las prácticas correspondientes en el estilo de vida (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019). Por ejemplo, la extracción y almacén eficiente de calorías por la MI tiene un valor funcional evolutivo importante en el mundo pre-industrializado, pero en el mundo industrializado moderno esta adaptación juega en contra debido al consumo de alimentos ultraprocesados y ricos en calorías, lo que conlleva a un exceso de almacén de energía (Sonnenburg & Sonnenburg, 2019). Así, los recientes cambios en el estilo de vida de las poblaciones humanas modernas se han convertido en presiones ecológicas importantes para su MI (Brushett et al., 2020).

Los cambios provocados por el EVI en la MI se asocian con efectos negativos en la salud de las poblaciones (Hold, 2014). Por ejemplo, la gran abundancia de *Akkermansia Muciniphila* en la población urbana se vincula con un debilitamiento de la pared intestinal y la correspondiente liberación de endotoxinas en el torrente sanguíneo, translocación bacteriana y un aumento de producción de citocinas pro-inflamatorias (Desai et al., 2016; Grathwohl et al., 2021; Makki et al. 2018; Strazar et al., 2021). Esta gran abundancia de *Akkermansia Muciniphila* en parte se ha explicado por la disminución en el consumo

de fibra en la dieta (Desai et al., 2016; Grathwohl et al., 2021; Makki et al. 2018; Maslowski and Mackay, 2011; Statovci et al., 2017). Aunado a lo anterior, el exceso de algunos metabolitos producidos por bacterias derivadas de la ingesta de carne roja (consumida en mayor medida en una dieta occidental), tienen un impacto perjudicial en el sistema vascular al incrementar el riesgo de problemas cardiovasculares (Brunt et al., 2020). Recientemente, en un estudio se encontró que aproximadamente el 90% de infantes en los Estados Unidos carecen de la especie *Bifidobacterium Infantis* en su MI, bacteria elemental en el metabolismo de la leche materna y aprovechamiento de sus nutrientes en el desarrollo infantil (Casaburi et al., 2021). En este mismo estudio también se encontró que la mayoría de la MI de los participantes incluía bacterias asociadas a inflamación entérica, acompañadas de gran expresión de genes de resistencia a antibióticos. Es importante notar que la muestra infantil del estudio fue reclutada de consultorios pediátricos de hospitales urbanos (Casaburi et al., 2021). Se ha demostrado que el uso de antibióticos y la ingesta de una dieta alta en grasa, tienen un efecto sinérgico en la salud intestinal del huésped al desencadenar un estado inflamatorio en el intestino (Lee et al., 2020). Más evidencia de esta relación proviene del estudio de personas con obesidad quienes suelen vivir con problemas de inflamación intestinal. Se ha encontrado que el proceso inflamatorio se explica principalmente por el efecto del consumo de una dieta occidental y su efecto en la composición de la MI, no por la obesidad en sí misma (Liu et al., 2021). De hecho, se ha propuesto que el tratamiento de los efectos de la obesidad debe basarse en el tratamiento óptimo de la inflamación derivada de la composición microbiana (Battson et al., 2018).

El efecto de los estilos de vida en los cambios en la composición MI desde la infancia, se estudió recientemente por Sánchez-Quinto y colaboradores (2020), al comparar la MI de infantes en comunidades indígenas mexicanas Me'Phaa, con infantes que habitan en la Ciudad de México. La elección de estas comunidades indígenas incluidas en su investigación fue debido a que tienen un EVNI, con costumbres que asemejan a las encontradas en épocas precolombinas, incluyendo una dieta alta en

fibra con bajo consumo de proteína animal y de alimentos procesados, con escaso o nulo uso de antibióticos, sin acceso a agua potable, nacimiento por vía vaginal y bajo consumo de fórmula láctea. Los resultados mostraron una mayor diversidad de la MI en la muestra de infantes indígenas y una mayor abundancia de familias microbianas como *Prevotellaceae*, *Spirocheataecae* y *Succinivibrionaceae*, en comparación con infantes de la ciudad. Aunado a lo anterior, se encontró que los infantes de la ciudad tenían mayor abundancia de familias como *Bacteroidaceae* y *Verrucomicrobiaceae*. Además, cada estilo de vida presentaba grupos de bacterias exclusivas que no se compartían entre poblaciones.

Estos resultados en las diferencias en grupos bacterianos y en su diversidad en relación al estilo de vida se han encontrado en diferentes poblaciones a lo largo del mundo. En un estudio de De Filippo y colaboradores (2010) se encontraron diferencias en la composición de MI de infantes africanos con EVNI en relación con la MI de infantes europeos con EVI. En comparación con el EVI, se encontró que la población con EVNI tuvo mayor riqueza bacteriana y más abundancia de bacterias de los géneros *Prevotella* y *Xylanibacter*, este último género se encontraba ausente en la MI de EVI. Para la edad adulta se han obtenido resultados similares, consistentemente se ha visto baja diversidad de la MI en zonas urbanas y gran abundancia del género *Bacteroidetes* y *Verrucomicrobia*, mientras que en zonas con EVNI se encuentra aumento de la abundancia del género *Prevotella* (Arrieta et al., 2014; Lokmer et al., 2020; Ou et al., 2013; Strazar et al., 2021). Diversos estudios han encontrado pérdida de algunas especies de bacterias debido a adaptaciones al EVI (Obregon-Tito et al., 2015). En un meta-análisis, se encontró que la población con EVI había introducido a su MI especies como *Barnesiella intestinihominis* y eliminado otras como *Treponema succinifaciens*, estos cambios se acompañaron de un aumento de la presencia de enzimas resistentes a antibióticos (Mancabelli et al., 2017).

En la literatura, se ha identificado y nombrado a las bacterias que se encuentran en mayor medida en poblaciones con EVNI como taxones VANISH (volátiles y/o asociados negativamente con sociedades industrializadas de humanos, traducido del inglés), tal es el caso de las familias

*Prevotellaceae*, *Succinivibrionaceae*, *Paraprevotellaceae* y *Spirochaetaceae* (Fragiadakis et al., 2019). Por otro lado, los taxones BloSSUM (Florecen o seleccionados en sociedades de urbanización/modernización, traducido del inglés), son las bacterias que se presentan en abundancia en las poblaciones con EVI, específicamente las familias *Bacteroidaceae* y *Verrucomicrobiaceae* (Sonneberg y Sonneberg, 2019). Aunque cada una de las anteriores familias mencionadas no son un biomarcador de salud comprobado, el problema reside en que durante siglos nuestra MI se ha adaptado a los cambios alimenticios y genéticos que experimentaron nuestros ancestros, por lo que los radicales cambios en el EVI, pueden generar incompatibilidades entre la actividad microbiana y la fisiología del huésped (Sonnenburg y Sonnenburg et al., 2019). Sin dudas, la MI y la genética de su huésped en el EVI lograran encontrar un equilibrio homeostático en algún punto, pero el trabajo en investigación será determinar cómo estos cambios abruptos en la composición microbiana predisponen a la aparición de las “enfermedades de la civilización” (Sonnenburg y Sonnenburg et al., 2019).

### **La Vital Influencia de la Microbiota Intestinal en el Neurodesarrollo.**

Hasta ahora, se han expuesto ejemplos que indican que la composición de la MI y la salud del huésped dependerá de que la composición bacteriana le proporcione los nutrientes y compuestos necesarios para que su cuerpo funcione de manera óptima. Ahora, es importante enfocarnos en explicar la íntima relación entre la MI y la forma en que modula mecanismos del neurodesarrollo del sistema nervioso central (SNC). A lo largo del cuerpo, las células del SNC, el sistema nervioso autónomo y el sistema nervioso entérico (SNE), forman una red neuronal capaz de detectar y responder a señales intrínsecas y extrínsecas (Slingerland y Stein-Thoeringer, 2018). En recientes años, se ha descrito que la MI es otro partícipe en esta intrincada red de comunicación, la cual constituye un eje microbiota-intestino-cerebro (eje MIC) (Carabotti et al., 2015). Año tras año se descubre más evidencia que indica que la MI afecta una amplia gama de funciones neuronales, desde el neurodesarrollo y la señalización sináptica, hasta el comportamiento (Slingerland y Stein-Thoeringer, 2018). Por ejemplo, se

ha comprobado la influencia que tiene el eje MIC en la conducta de ingesta del huésped, con un papel sinérgico entre la MI y el tracto gastrointestinal que modula las señalizaciones neuroendocrinas sobre saciedad y hambre (Alcock et al., 2014; Gabanyi et al, 2022; Fernandes et al., 2020).

Actualmente, un papel de la MI que está recibiendo mucha atención es el efecto que tienen estos microorganismos sobre las actividades metabólicas del cerebro durante las ventanas críticas del neurodesarrollo (Goyal et al., 2015). Se ha encontrado recientemente que las bacterias que metabolizan el triptófano, producen unas pequeñas moléculas llamadas indoles, que tienen un papel importante en la neurogénesis en el hipocampo (Wei et al., 2021). La composición de la MI también se ha vinculado al riesgo de desarrollar enfermedades cerebrovasculares, debido al desbalance de metabolitos bacterianos necesarios para una correcta estabilidad vascular (Polster et al., 2020). También se ha observado el efecto que tienen los productos metabólicos de la MI en el correcto desarrollo y expresión proteica de células microgliales en el SNC (Chu et al., 2019). Un nuevo estudio ha encontrado que los astrocitos (células gliales más abundantes en el SNC, con funciones como el transporte de nutrientes y el soporte para las neuronas) no son totalmente uniformes, al menos la actividad de uno de los diferentes subtipos es modulada por la MI y con resultados antiinflamatorios en el cerebro (Sanmarco et al., 2021). Estos resultados amplían el rango de influencias de la MI en el correcto desarrollo del SNC, lo que conlleva a la necesidad de mayor investigación sobre el proceso en que las bacterias están implicadas en la modulación neuronal.

Dadas las miles de especies que componen a la MI, es necesario diseñar experimentos que logren explicar el efecto colectivo del conjunto de estas especies en el neurodesarrollo. Para esto, los modelos experimentales propuestos incluyen el uso de ratones gnotobióticos (RG) y el trasplante fecal de microbiota (TFM). Los RG son animales nacidos y criados libres de gérmenes, mantenidos en un ambiente estéril y aislado, para que en algún momento específico sean colonizados con comunidades microbianas recolectadas de diversas fuentes (Goyal et al., 2015). TFM, en el tratamiento de

enfermedades en seres humanos, se refiere al proceso de infusión de materia fecal de una persona donante sana al intestino de alguna persona enferma para aliviar algún padecimiento gastrointestinal (Li et al., 2016). En el caso de estudios murinos en búsqueda de la patogénesis de enfermedades, el TFM usa muestras fecales de un ratón o persona con alguna condición específica para ser introducidas en un RG, observando los cambios que producen la composición general bacteriana en un nuevo huésped, logrando evitar resistencias a la colonización debido a la carencia de bacterias competitivas.

Entre algunos ejemplos del uso de RG en el estudio del papel de la MI en el desarrollo neurológico, se ha encontrado en un estudio que la abundancia de la familia *Lactobacillus* tiene una correlación positiva con el mejoramiento en pruebas de memoria en ratones (Mao et al., 2020). En este estudio, se comprobó que administrar la especie *L. Reuteri* en RG mejoró su desempeño en pruebas de memoria, concluyendo los autores que el lactato (el principal metabolito de la familia *Lactobacillus*) podría tener una implicación en el correcto desarrollo de las zonas cerebrales implicadas en la memoria.

Por otro lado, el proceso de privar de MI a los murinos mediante antibióticos y/o un ambiente estéril, resulta en modificaciones en la disposición de metabolitos bacterianos esenciales, lo cual provoca cambios en la expresión de genes en neuronas excitatorias y microglías, principalmente en genes relacionados a la organización y poda sináptica en ratones, provocando una mayor latencia en su respuesta a estímulos de miedo aprendido (Chu et al., 2019). La relevancia de lo anterior, es que se ha encontrado que la recolonización de la MI en edades neonatales previene los déficits de aprendizaje en edad adulta de los RG (Chu et al., 2019). Los estudios con RG muestran la importancia de la correcta maduración de una MI beneficiosa para el huésped en edades tempranas, para evitar afectaciones cerebrales a lo largo del crecimiento.

Por otro lado, algunos datos preclínicos y clínicos destacan la asociación significativa de ciertas composiciones de la MI con el desarrollo y progresión de enfermedades psiquiátricas y neurológicas (Slingerland y Stein-Thoeringer, 2018). En los últimos años se ha tratado de usar la composición de la MI

como un biomarcador de la salud cerebral del individuo. Por ejemplo, se ha identificado que la MI es útil para la identificación de riesgo de desarrollar Alzheimer, siendo el método propuesto la medición del desbalance de los niveles de metabolitos intestinales bacterianos como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y lipopolisacáridos (LPS), ya que una menor proporción de AGCC como butirato y una mayor concentración de LPS predicen el riesgo a presentar la enfermedad (Marizzoni et al., 2020).

Recientemente, en una meta-análisis, se encontró que la abundancia reducida de *Coprococcus* y *Faecalibacterium*, y la abundancia enriquecida de *Eggerthella* son composiciones de la MI que se compartieron consistentemente entre pacientes con trastorno depresivo mayor, trastorno bipolar, psicosis, esquizofrenia y ansiedad (Nikolova et al., 2021). Los autores concluyen que la importancia de estos géneros en la salud se debe a la capacidad antiinflamatoria de *Coprococcus* y *Faecalibacterium* por la producción de butirato, un metabolito importante para la integridad del epitelio intestinal y la disminución de citocinas proinflamatorias, mientras que la abundancia del género *Eggerthella* está relacionado a la prevalencia de un estado inflamatorio intestinal (Nikolova et al., 2021).

La íntima relación entre el sistema inmune y la MI se mencionó brevemente al hablar sobre la teoría de la higiene, sin embargo, es necesario explicar la relación que tiene la inflamación inmunomediada con ciertos trastornos mentales. Existen estudios epidemiológicos que demuestran la comorbilidad entre trastornos mentales y alteraciones inmunológicas (Ouabbou et al., 2020). Particularmente en lo que respecta a la depresión, año tras año se ha tratado de dilucidar el mecanismo por el cual el estado inflamatorio conlleva a afectaciones en el SNC que se relacionan con esta condición. La propuesta de múltiples revisiones (Averina et al., 2020; Bastiaanssen et al., 2020; Evrensel et al. 2020; Makris et al., 2020; Rivet-Noor y Gaultier, 2020) es que, en la depresión, el desbalance en las bacterias proinflamatorias provoca cambios en la permeabilidad intestinal y en la cantidad de metabolitos disponibles para el huésped, como AGCC, productos de la ruta metabólica del triptófano y de neurotransmisores como serotonina, ácido gamma-aminobutírico (GABA), dopamina, entre los más

importantes. Por su parte, las endotoxinas bacterianas inician la inflamación periférica, mediada por los linfocitos T y los macrófagos con la producción de citocinas proinflamatorias. El nervio vago, el principal puente de comunicación directa entre el SNC y SNE, es de vital importancia ya que la inflamación periférica activa sus aferencias al eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HHA), provocando desbalances neuroendocrinos como una mayor producción de hormona liberadora de corticotropina, lo cual tiene como resultado una mayor producción de cortisol. Este aumento de cortisol provoca un cambio en la permeabilidad intestinal lo que permite que las endotoxinas bacterianas (comúnmente LPS) o bacterias mismas, se escapen del lumen intestinal y entren en el torrente sanguíneo, provocando los efectos inmunológicos anteriormente descritos.

Es por lo anterior que, debido a los efectos inmunológicos, la MI tiene una relación directa con la patogénesis de diversos trastornos mentales. Aunque existe todavía mucho camino para poder desenredar todo el mecanismo detrás de esta relación, es inevitable incluir el estudio de la MI en la psicobiología. El reto más importante ahora es elaborar estrategias y métodos de estudios para un sistema donde interactúan miles de especies, en conjunto con miles de variables a las que está expuesto el huésped en su entorno.

### **Análisis de Redes Microbianas como Herramienta para el Estudio de su Robustez.**

Se ha expuesto hasta ahora la importancia del ambiente y estilo de vida como factores indirectos en el cambio de la composición de la MI del huésped. Al hablar de la composición de la MI, es importante mencionar que los microorganismos forman múltiples relaciones ecológicas, que van desde el mutualismo hasta la competencia en relación a los recursos administrados, lo que da forma a la abundancia diferencial microbiana en cada individuo (Bauer et al., 2018; Matamoros et al., 2013; Statovci et al., 2017). La interacción bacteria-bacteria y la bidireccionalidad entre bacteria-huésped generan una red compleja de comunicación, por lo que cualquier cambio en las propiedades del huésped o de la composición de su MI tiene un efecto mutuo, hasta encontrar un equilibrio



homeostático (Bauer et al., 2018; Coyte et al., 2015; Huitzil et al., 2018; Layeghifard et al., 2017; Sommer et al., 2017). Siendo específicos, cada nicho bacteriano compite por su prevalencia en la MI ya que cada uno se especializa en el aprovechamiento de ciertos recursos, por lo que las bacterias que conviven de manera mutualista con el huésped serán seleccionadas en la composición general microbiana (Bauer et al., 2018). Como se ha citado hasta ahora, existe también la posibilidad de que la MI tenga efectos negativos sobre el huésped. La composición bacteriana y su actividad puede afectar a la permeabilidad del epitelio intestinal, debilitando y permitiendo que se interrumpa la barrera que separa el contenido intestinal con el torrente sanguíneo, lo que impacta en los canales de comunicación con otros sistemas, como puede ser una síntesis exacerbada de moléculas proinflamatorias por parte del sistema inmunitario o una deficiencia en el metabolismo de moléculas de señalizadoras exclusivas de las bacterias (Rojo et al., 2017; Sommer et al., 2017). Por lo anterior, es necesario el trabajo en conjunto de bacterias del mismo género que sinérgicamente realicen cierta función vital para la salud del huésped evitando desbalance de metabolitos vitales (Bauer et al., 2018; Huitzil et al., 2018). Una interacción fallida en cualquier nicho, debido a una pérdida de comunicación, provocaría la pérdida de su funcionalidad. El mantenimiento de una microbiota beneficiosa para el huésped requiere un equilibrio homeostático dentro de las comunidades microbianas, y también entre la MI y la interfaz intestinal del huésped (Sommer et al., 2017). Una MI óptima debe tener suficiente flexibilidad o adaptabilidad para responder a la variabilidad externa, como cambios en los tipos de alimentos o recursos disponibles, pero también debe ser robusta en términos de poblaciones de bacterias clave que sean resilientes a perturbaciones (Bauer et al., 2018; Ramírez-Carrillo et al. 2020). Una MI con una menor robustez ante una perturbación fomentará que el tipo de servicios ecosistémicos que le ofrece al huésped sean menos consistentes o se restablezcan con menor rapidez, lo que resultaría en un estado de salud desfavorable para el huésped (Bauer et al., 2018). A esta pérdida de las funciones e inestabilidad de la MI se le conoce como disbiosis, un término que hasta el momento se considera únicamente como una idea teórica que

alude a un estado patofisiológico del huésped promovido por esta baja robustez e inestabilidad de la MI (Bauer et al., 2018; Rojo et al., 2017). Este término, por ende, hará referencia a un estado desfavorable de la MI que repercutirá negativamente en la salud del huésped.

Sin embargo, se ha argumentado que la diversidad microbiana, en términos taxonómicos, puede no ser lo suficientemente informativa o sensible como indicador del estado del ecosistema en respuesta a las perturbaciones (Karimi et al., 2017). El estudio de la abundancia individual de cada especie, género o familia no permite visualizar la red de interacción que tienen en conjunto toda la MI. Una herramienta importante al estudiar la interacción entre especies son las matrices o redes de co-ocurrencia. Como se ha mencionado anteriormente, cuando tenemos una gran variedad de recursos, dos o más especies pueden competir o compartir el mismo recurso. El resultado combinado de todas estas interacciones entre miles de especies puede conducir a la evolución conjunta de los organismos en el medio ambiente (relación positiva conocida como co-ocurrencia) (Karimi et al., 2017). Las redes de co-ocurrencia brindan una visión holística de los ecosistemas ya que integran los efectos directos e indirectos de las perturbaciones sobre la diversidad y las relaciones entre las especies dentro de la comunidad (Karimi et al., 2017). Se han aplicado los datos de presencia-ausencia de especies y su abundancia para detectar patrones significativos de co-ocurrencia y representarlos como una red (Karimi et al., 2017; Ramírez-Carrillo et al. 2020), dando mayor cantidad de información sobre sus interacciones en la MI.

Los sistemas biológicos complejos y su red de interacciones a menudo se modelan matemáticamente como un grafo (Guzzi y Roy, 2020). Un grafo es una representación pictórica de un conjunto de objetos y su relación. Los objetos o elementos se denominan como nodos y las relaciones entre estos se representan mediante interconexiones entre pares de nodos, lo que se conocen como aristas (Guzzi y Roy, 2020; Rodrigues, 2019). Es entonces que, matemáticamente, las redes biológicas se representarán como un conjunto de aristas y nodos, que se intercomunican en una red, su estudio se refiere como teoría de redes (Guzzi y Roy, 2020; Rodrigues, 2019). La topología de red es el arreglo y

parámetro de los elementos (nodos) de una red (Pavlopoulos et al., 2011). En una red microbiana el número de nodos debe diferenciarse de la riqueza específica, ya que solo se indica el número de taxones interconectados con una fuerte co-ocurrencia (Karimi et al., 2017). A esta relación de co-ocurrencia se le asigna un valor o peso, el cual indica el grado de correlación de la presencia entre dos especies (Karimi et al., 2017).

La conectividad de una red puede interpretarse como el nivel de organización observado de la red (Karimi et al., 2017). Como Pavlopoulos y colaboradores indican (2012), el grado de un nodo es el número total de aristas que residen de éste, por ende, su conectividad. Al nodo conectado a un nodo dado se le denomina su vecino. El número promedio de vecinos es un indicador de la conectividad media de los nodos de la red y una versión normalizada de este parámetro es la densidad de la red. La densidad de red muestra que tan dispersa o densa es en relación con el número promedio de conexiones por nodo. Una red se puede dividir en subredes en el que cada par de nodos distintos está conectado por una única arista (Pavlopoulos et al., 2011). Por igual, se puede implementar un análisis de la distancia de edición de grafos (GED, por sus siglas en inglés) entre dos redes para poder conocer el grado de disimilitud entre ellas (Gao et al., 2010). El proceso consta en determinar el número de nodos y aristas que son necesarios eliminar o agregar a una red dada para ser igual a una red objetivo (Gao et al., 2010). Esta medida descriptiva permite de manera eficaz determinar el porcentaje de diferencia entre dos redes.

La conectividad en una red biológica no suele ser homogénea, existen naturalmente nodos que tienen una mayor conectividad que otros. Un nodo central en una red es el que tiene mayor grado en comparación al resto (Karimi et al., 2017; Pavlopoulos et al., 2011). La heterogeneidad de red es una medida que indica la posibilidad de encontrar nodos con gran centralidad en una red; entre mayor la medida, mayor número de nodos centrales conectados a nodos con baja centralidad (Doncheva et al., 2012; Dong y Horvath, 2007). En relación a los nodos centrales, la centralidad (o centralidad de grado) es

un parámetro que indica la distribución de la conectividad de una red (Karimi et al., 2017; Pavlopoulos et al., 2011; Doncheva et al., 2012). La centralidad de red muestra la magnitud en que uno o varios nodos centrales están involucrados en una gran cantidad de interacciones, es decir, que acaparan la conectividad total de la red (Karimi et al., 2017; Pavlopoulos et al., 2011; Doncheva et al., 2012). Si un nodo exhibe alta centralidad dentro de la red microbiana, se identifica como un taxón clave, es decir, un taxón principal que mantiene la estructura de la red y, por lo tanto, potencialmente el funcionamiento del ecosistema (Layeghifard et al., 2017). Es importante mencionar que la heterogeneidad y centralidad de red no son conceptos intercambiables, ya que el primero se refiere a la existencia de un mayor número de nodos centrales, mientras el segundo a qué tanto los nodos centrales influyen en la conectividad total de la red.

Aunque la MI está constantemente expuesta a los desafíos ambientales, su composición y función en un individuo son estables frente a las perturbaciones, ya que las comunidades microbianas son resilientes y resistentes al cambio (Karimi et al., 2017; Pavlopoulos et al., 2011). Es usual el uso de análisis de la topología de redes para comprobar si éstas permanecerán conectadas o reorganizadas después de la falla de algún número de nodos o aristas (Guzzi y Roy, 2020; Rodrigues, 2019). El proceso que resulta de tomar una red y eliminar una fracción de sus nodos (junto con sus respectivas aristas) se denomina percolación (Iyer et al., 2013). Esta filtración proporciona un modelo natural para estudiar los nodos más importantes en una red, ya que indican los que aportan en mayor medida a la integridad de la red (Iyer et al., 2013). Es por lo anterior, que el estudio de la robustez de una red permitiría entender la probabilidad de su colapso ante alguna amenaza. Tener una medida cuantitativa de la robustez es una tarea compleja. Simular la capacidad de una red de soportar perturbaciones aleatorias, conlleva a que existe múltiples análisis a tomar en cuenta; desde la forma de percolación usada (eliminación ascendente o descendente por nodos centrales, eliminación aleatoria de nodos, en intervalos permitiendo la reorganización e introducción de nuevos nodos, entre otros métodos) o la topología de la

red (densidad y centralidad de red) (Iyer et al., 2013; Kim y Anderson, 2013; Martin y Niemeyer, 2021). Se ha demostrado que las redes biológicas tienden a ser robustas frente a perturbaciones aleatorias, pero la interrupción de los nodos centrales conduce a la falla del sistema (Pavlopoulos et al., 2011). Por ende, una red con mayor centralidad está en riesgo del colapso ante alguna perturbación a los nodos centrales (Iyer et al., 2013; Kim y Anderson, 2013; Martin y Niemeyer, 2021; Watts, 2002). En relación a la conectividad, entre más interconectados están los nodos, la red confiere una mayor capacidad de reorganización ante alguna perturbación (Iyer et al., 2013; Kim y Anderson, 2013; Martin y Niemeyer, 2021; Watts, 2002). Por lo anterior, la comparación de la densidad, heterogeneidad y centralidad de la red son las medidas que permiten inferir la robustez de una red, la cual es imposible de analizar solo con las abundancias relativas de especies. Integrar el análisis de redes en los estudios de la MI ya no debería ser una opción, ya que si se quiere estudiar la complejidad de la interacción de millones de bacterias que están en constante reorganización, será imposible solo enlistando y contando cada una de éstas. En la implementación de análisis de redes podría estar la clave de comprender el colapso y disfunción de la MI en la presencia de enfermedades. Analizar si la relevancia de ciertos grupos bacterianos en la patogénesis de algunas enfermedades radica en que su subred ha perdido o podría perder interconexión debido a una baja robustez, permitirá expandir la literatura que relaciona a la MI con la salud del huésped, en especial en los estudios sobre la importancia del eje MIC.

## Justificación

El estudio de Sánchez-Quinto y colaboradores (2020) realizado con niñas y niños indígenas de la comunidad indígena Me'phaa del estado de Guerrero y de la Ciudad de México, fue pionero en el estudio de la MI en edad infantil en México asociado con distintos estilos de vida. En dicho estudio, se demostró que desde edades tempranas ya se observa el efecto que tiene el estilo de vida en la diversidad microbiana, con una mayor diversidad de múltiples especies en el EVNI. Considerando estos antecedentes, el presente estudio tiene como primer objetivo evaluar si los cambios en la diversidad microbiana infantil encontrados en estas dos poblaciones, tiene afectaciones en la abundancia de los géneros que se ha descubierto que tienen una relación con la presencia de una gran gama de trastornos mentales, como lo son *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium* (Nikolova et al., 2021).

Por otro lado, la construcción y análisis de redes ha ido recientemente ganando relevancia en el estudio de la MI, ya que es una herramienta que podrá brindar una medida objetiva, reproducible y comparable de la idea teórica de disbiosis (Layeghifard et al., 2017). Estudios recientes como el de Ramírez-Carrillo y colaboradores (2020), ha permitido ilustrar el efecto tan pronunciado de una perturbación como lo es la presencia de parásitos oportunistas, sobre las subredes de los géneros *Coprococcus* y *Dialister*. En dicho estudio, el uso de análisis de redes permitió observar que la mera presencia de parásitos ocasiona una desestabilización de las subredes de estos géneros. Podemos entonces observar, que el estilo de vida es una fuente de variación de la composición de la MI. Por ende, el estilo de vida sería una perturbación en la MI, medible por el análisis de redes. Esta tesis propone evaluar si la MI de los niños y niñas de EVI y EVNI es distinta en cuanto a la topología de la red de MI general y en las subredes de *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium*. Será importante observar si existen diferencias en su conectividad, para poder inferir efectos en la robustez de las redes, complementando la comparación de abundancias de los GRTM. Estudiar la población infantil ayudará a proporcionar evidencia de la existencia de un efecto del estilo de vida en estos géneros desde edades

tempranas, lo cual podrán ser investigados en edad adulta. El estudio de Nikolova y colaboradores (2021), mencionan que estamos lejos de encontrar algún biomarcador de cualquier trastorno mental. Sin embargo, en dicho meta-análisis, se observa que en los estudios citados nunca se ha explorado los GRTM mediante el uso de análisis de redes, mucho menos comparando la dinámica de éstos entre estilos de vida tan contrastantes. Es necesario no sólo diversificar el estudio de biomarcadores de la MI en la salud en varias poblaciones del mundo para conocer si los datos son universales, sino aplicar herramientas de análisis que permitan estudiar sistemas tan complejos como la MI de la manera apropiada, más allá de los resultados basados en la cuantificación de especies. Lo anterior, permitirá seguir aportando a la importancia de aplicar el análisis de redes en los estudios sobre la MI, la cual ha sido despojada de su naturaleza holística, siendo más que la suma de cada una de sus especies. Por otro lado, seguir estudiando a la MI como un ente inseparable al ambiente en que habita el huésped, ilustra los posibles riesgos latentes de cada estilo de vida, teniendo como objetivo promover tratamientos eficaces que tomen como base una perspectiva ecológica de cada persona. Entender la relación de la MI con la salud mental es un reto importante para la psicobiología, sin embargo, es vital seguir desenredando la dinámica de grupos bacterianos clave para poder lograr obtener las herramientas para mejorar al cerebro desde el intestino.

## Objetivos e Hipótesis

### Objetivo General

Determinar las diferencias en la topología de las redes microbianas generales y en la abundancia relativa y topología de las subredes de los géneros *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium* (GRTM) en niñas y niños de la ciudad de México (EVI) y de la comunidad indígena Me'phaa de la montaña alta de Guerrero.

### Objetivos Específicos

- 1.- Comparar la abundancia relativa de los GRTM entre estilos de vida EVI y EVNI.
- 2.- Determinar el porcentaje de diferencia de la topología las redes generales de la MI entre estilos de vida EVI y EVNI.
- 3.- Comparar la diferencia en porcentaje de los parámetros topológicos de conectividad de las redes generales de la MI (número de nodos, aristas, densidad de red, heterogeneidad de red y centralidad de red) entre estilos de vida EVI y EVNI.
- 4.- Determinar el porcentaje de diferencia de topología de las subredes de los GRTM entre estilos de vida EVI y EVNI.
- 5.- Comparar la diferencia en porcentaje de los parámetros topológicos de conectividad (número de nodos, aristas, densidad de red, heterogeneidad de red y centralidad de red) de las subredes de los GRTM, entre estilos de vida EVI y EVNI.

### Hipótesis general

La abundancia de los GRTM, al igual que la topología de la red general y subredes de los GRTM, serán diferentes entre los estilos de vida EVI y EVNI.

### H1.

La abundancia relativa de los géneros *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium* será menor en niñas y



niños de 5-10 años que habitan en la ciudad de México y que tienen un EVI, en comparación con niñas y niños indígenas Me'phaa del estado de Guerrero de la misma edad que tienen un EVNI.

**H2.**

La diferencia en la topología de la red general de la MI, determinada mediante el algoritmo GEDEVO, de niñas y niños de 5-10 años que habitan en la ciudad de México que practican tienen un EVI, será diferente, en comparación con niñas y niños indígenas Me'phaa del estado de Guerrero de la misma edad que practican con un EVNI.

**H3.**

La conectividad de las redes microbianas generales, determinadas mediante los parámetros como número de nodos, número de aristas, densidad de red, heterogeneidad de red y centralidad de red, obtenidos mediante el análisis de red, será mayor en niñas y niños de 5-10 años que habitan en la ciudad de México que practican tienen un EVI, en comparación con niñas y niños indígenas Me'phaa del estado de Guerrero de la misma edad que practican con un EVNI.

**H4.**

La diferencia en topología de las subredes de los géneros *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium*, determinada mediante el algoritmo GEDEVO, de niñas y niños de 5-10 años que habitan en la ciudad de México que practican tienen un EVI, será diferente, en comparación con niñas y niños indígenas Me'phaa del estado de Guerrero de la misma edad que practican con un EVNI.

**H5.**

La conectividad de las subredes de los géneros *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium*, determinadas mediante los parámetros como número de nodos, número de aristas, densidad de red, heterogeneidad de red y centralidad de red, obtenidos por el análisis de red, será mayor en niñas y niños de 5-10 años que habitan en la ciudad de México que tienen un EVI, en comparación con niñas y niños indígenas Me'phaa del estado de Guerrero de la misma edad que practican con un EVNI.

## Metodología

### Población

Para este estudio se utilizó los datos obtenidos de la composición taxonómica bacteriana de la MI de los participantes en el estudio de Sánchez-Quinto (2020). En este estudio se obtuvo la identificación taxonómica de la MI a partir de la extracción y secuenciación de ARN (ácido ribonucleico) ribosomal 16S en muestras fecales de 33 infantes mexicanos (15 niños y 18 niñas) entre 5 y 10 años de dos comunidades indígenas Me'Phaa en Guerrero, de las zonas Plan de Gatica (7 ° 7 ' 49.5552 " N 99.7 ', EASL 510 m) y El Naranjo (17 ° 9 ' 54.0036 " N 98 ° 57 ', 50.9832 " W, EASL 860 m). De igual forma, se obtuvieron muestras fecales de infantes de la Ciudad de México (obtenidos de hijos de estudiantes en la Universidad Pedagógica Nacional), donde se recogieron muestras de 13 infantes (4 niños y 9 niñas). En el estudio reciente de Ramírez-Carillo y colaboradores (2020), se encontró que la presencia de perturbaciones intestinales, como los parásitos helmintos *A. lumbricoides*, provoca afectaciones a las redes bacterianas de sus huéspedes. Debido a lo anterior, un criterio de exclusión para el presente estudio fue que se utilizaron únicamente aquellas muestras que no tuvieran presencia de *A. lumbricoides*, mediante confirmación por microscopía de campo claro. La muestra resultante de este filtro de selección fue de 18 infantes indígenas (7 niñas y 9 niños) y 13 infantes habitantes de la Ciudad de México (4 niños y 9 niñas).

Todos los procedimientos de prueba y reclutamiento del estudio fueron aprobados (25 de septiembre de 2017) por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Psicología de la Universidad Nacional Autónoma de México (FPSI/CE/01/2016) y se ejecutaron de acuerdo con los principios éticos y lineamientos de la Ley Oficial Mexicana (NOM-012-SSA3-2012). Las personas responsables del cuidado de infantes participantes leyeron y firmaron un consentimiento informado por escrito para la participación de las niñas y niños.

## Determinación Taxonómica de la MI

Para este estudio, se usaron los datos obtenidos de la secuenciación genética y determinación taxonómica de la MI comparando niños y niñas de la Ciudad de México en relación a niños y niñas Me'Phaa de Guerrero, procedimiento explicado más a detalle en Sánchez-Quinto y colaboradores (2020). En dicho estudio, cada participante entregó una muestra fecal en un frasco de plástico esterilizado, para posteriormente dividirse en microtubos de 100  $\mu$ L, las cuales se congelaron con nitrógeno líquido a  $-20^{\circ}$  C. Se almacenaron las muestras hasta la extracción del ADN, mediante el Kit DNeasy Blood & Tissue (Qiagen, Valencia, CA, EE. UU), según las instrucciones del fabricante. El ADN se suspendió en 30  $\mu$ L de agua de grado molecular y se almacenó a  $-20^{\circ}$  C hasta la amplificación por PCR. Posteriormente, se amplificó la región hipervariable V4 del ARNr 16S con los cebadores universales bacterial/archaeal 515F/806R. La mezcla de PCR se realizó en reacciones de 25  $\mu$ L por triplicado por muestra de la siguiente manera: 2,5  $\mu$ L de tampón de PCR Takara ExTaq 10  $\times$ , 2  $\mu$ L de mezcla Takara dNTP (2,5 mM), 0,7  $\mu$ L de albúmina sérica bovina (BSA, 20 mg mL<sup>-1</sup>), 1 l de cebadores (10 m), 0,125 l de ADN polimerasa Takara ExTaq (5 U l<sup>-1</sup>) (TaKaRa, Shiga, Japón), 2 l de ADN y 15,67 l de agua libre de nucleasas. El protocolo de PCR incluyó un paso de desnaturalización inicial a  $95^{\circ}$  C (3 min), seguido de 35 ciclos a  $95^{\circ}$  C (30 s),  $52^{\circ}$  C (40 s) y  $72^{\circ}$  C (90 s), seguido de una extensión final ( $72^{\circ}$  C, 12 min). Los triplicados se agruparon y purificaron utilizando la perla magnética SPRI, sistema de purificación por PCR AgencourtAMPure XP 214 (Beckman Coulter, Brea, CA, EE. UU.). La caracterización de los fragmentos de ARNr 16S fecales (20 ng por muestra) se secuenciaron en una plataforma IlluminaMiSeq (Yale Center for Genome Analysis, New Haven, CT, USA) y se generaron lecturas de extremos emparejados de alrededor de 250 pb. Todas las secuencias obtenidas se cargaron en la base de datos del NCBI con el número de Bioproyecto PRJNA593240. Las lecturas de 2  $\times$  250 del extremo emparejado se procesaron en QIIME2. Se eliminaron de ruido con el complemento DADA2 para obtener las variantes de secuencia de amplicón (ASVs, por sus siglas en inglés). Las secuencias representativas de ASV se asignaron taxonómicamente utilizando el

"complemento classify consensus-vsearch", utilizando la base de datos SILVA 132 como referencia. Se realizó un alineamiento con el algoritmo MAFFT. Después de enmascarar las conservaciones posicionales y el filtrado de brechas, se construyó una filogenia con el algoritmo FastTree. La tabla de abundancia y filogenia se exportaron al entorno R para realizar el análisis estadístico con los paquetes phyloseq y ggplot2. Los ASV plásticos se filtraron de las muestras, que se enrarecieron a un esfuerzo de secuenciación mínimo de 21 000 lecturas por muestra. Se trazó un diagrama de Venn con los ASV por ubicación utilizando la función vennDiagram de la biblioteca limma en R. Las ASV representan las secuencias biológicas del ARNr 16S y distinguen las variantes que difieren en tan solo un nucleótido entre cada muestra, por ende, la obtención de estas ASVs son la mejor opción para la distinción taxonómica de una muestra (Callahan et al. 2017).

### **Análisis de Redes y sus Diferencias entre Poblaciones**

Se utilizó el lenguaje de programación R (versión 3.6.1) (Team, 2019) para la construcción de los modelos de regresión beta cero-inflado (ZIBM, por sus siglas en inglés) en la comparación de abundancias relativas de los géneros relacionados a trastornos mentales (GRTM), *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium*. Se usó dicho modelo debido al exceso de ceros en las abundancias relativas de diferentes especies de cada género, permitiendo el análisis en las medidas de proporción entre especies y a la falta de normalidad de los datos. Debido a que se ha reportado que la abundancia en la MI podría tener cambios en función de la edad (Bauer et al., 2018; Hildebrand et al., 2021) y de hormonas sexuales (Jašarević et al., 2016), se utilizaron como variables predictoras al estilo de vida, la edad y el sexo. La construcción del ZIBM se realizó mediante el paquete GAMLSS (Rigby y Stasinopoulos, 2005).

Para la construcción y análisis de las redes de la MI de cada participante, se utilizó la información de las abundancias relativas de las ASV de la población de cada estilo de vida. Con estos valores se construyó una matriz de co-ocurrencia con base en la presencia-ausencia de cada ASV, asignando un "1"

a la presencia de una especie sin importar su abundancia, y un “0” cuando carecía de abundancia de la especie. Una matriz de co-ocurrencia es la construcción de una tabla de datos que determinan el grado de asociación positiva entre la presencia de un objeto dado y la presencia de cualquier otro objeto (Karimi et al., 2017). Esta tabla compara y asigna un peso a la co-ocurrencia entre cada par de objetos posibles en una muestra. La función calculará los valores  $p$  asociados con coocurrencias por pares y devolverá una lista de coocurrencias. Si  $p < 0.05$ , entonces el par de especies coexisten con una frecuencia inferior a la que esperaríamos encontrar por casualidad. Las matrices de co-ocurrencia y la obtención de los pesos de asociación, se obtuvieron mediante el paquete Cooccur en R (versión 3.6.1).

Con los pesos de co-ocurrencia, se usó el programa de código abierto CytoScape (Shannon et al., 2003) para la construcción y análisis de las redes generales microbianas. Cytoscape es un proyecto de software de código abierto para integrar redes de interacción biomolecular a gran escala, manejando características básicas como el diseño de la red y la asignación de atributos de datos a las propiedades de visualización (Shannon et al. 2003). En dicho programa, se carga el archivo con el peso de relación entre cualquier número de objetos, creando automáticamente la visualización de su red.

Para determinar el porcentaje de diferencia entre las redes microbianas generales y subredes de los GRTM, se usó una implementación del análisis de la GED, la cual es una medida de similitud (o disimilitud), entre dos redes. El proceso consta en determinar el número de nodos y aristas que son necesarios eliminar o agregar a una red dada para ser igual a una red objetivo (Gao et al., 2010). En la aplicación CytoGEDEVO, instalable en CytoScape, se obtiene esta medida, cargando al programa los archivos con los pesos de relación entre especies de dos redes objetivo, y mediante la aplicación de un algoritmo evolutivo para determinar la medida GED-Score (Malek et al., 2016), se obtiene el puntaje entre 0 y 1, el cual se multiplica por 100 para transformarse en un porcentaje de diferencia.

Para obtener las medidas de conectividad, se usaron los parámetros de la topología de las redes microbianas generales y las subredes del GRTM. Estos parámetros son el número de nodos, número de

aristas, densidad de red, heterogeneidad de red y centralidad de red. Estos datos se obtuvieron del uso de la herramienta "Análisis de red" incluida en la versión base de Cytoscape, en el cuál solo es requerido la creación de cualquier red y al usar la herramienta te otorga, entre varias medidas, el número de nodos, número de aristas, densidad de red, heterogeneidad de red y centralidad de red. El número de nodos y aristas son esenciales para los cálculos en determinar la conectividad de la red. El número promedio de vecinos es un indicador de la conectividad media de los nodos de la red y una versión normalizada de este parámetro es la densidad de la red, la cual toma un valor entre 0 y 1, siendo 0 una nula conectividad (Pavlopoulos et al., 2011). La densidad de red muestra que tan dispersa o densa es en relación con el número promedio de conexiones por nodo, calculado como dos veces el número de nodos, entre el número de aristas multiplicado por el número de aristas menos uno (Pavlopoulos et al., 2011). Un nodo central es el que tiene el mayor grado en comparación al resto (Pavlopoulos et al., 2011). La heterogeneidad de red indica la posibilidad de encontrar mayor número de nodos centrales (Doncheva et al., 2012; Dong y Horvath, 2007) en relación a la distribución total de la conectividad. En relación a los nodos centrales, la centralidad (o centralidad de grado) es un parámetro que indica la distribución de la conectividad de una red, puede tomar un valor entre el 0 y 1, 0 indicando que la red se conecta de manera uniforme entre todos los nodos y al acercarse al 1, indica que la conectividad total de una red depende de su nodo central (Pavlopoulos et al., 2011). La centralidad de grado muestra que uno o más nodos están involucrados en una gran cantidad de interacciones, es decir, que influye en la conectividad total de la red (Karimi et al., 2017; Pavlopoulos et al., 2011). Una red con mayor centralidad está en riesgo del colapso ante alguna perturbación aleatoria (Iyer et al., 2013; Kim y Anderson, 2013; Watts, 2002), ya que la conectividad de esta depende de solo la integridad de los nodos centrales. Al tener una red más heterogénea con un alto grado de centralidad, se corre el riesgo de que la conectividad de la red recaiga en la mera presencia de solo los nodos centrales, y al ser eliminados estos, la integridad de la red colapsaría. Sin embargo, una mayor conectividad y su distribución óptima confiere

una mayor capacidad de reorganización de la red ante alguna perturbación (Iyer et al., 2013; Kim y Anderson, 2013; Watts, 2002).

Para la construcción de las subredes de los GRTM, se utilizó la aplicación cytoHubba (Chin et al., 2014). Esta aplicación para Cytoscape se usa para explorar nodos importantes en una red mediante 11 distintos algoritmos topológicos (Chin et al., 2014). Por igual, usa los pesos de nodos para generar subredes en una red general cuando se alimenta a la aplicación los nodos objetivo para hacer una subred. En este programa se usaron los códigos asignados a los ASVs de los géneros *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium* respectivamente, para construir sus subredes. Para la presentación de la subred y el análisis topológico, se eliminaron los nodos que no interconectan con el resto de las especies del género, para solo analizar los nodos que compartieran una arista única.

## Resultados

### Comparación de las Abundancias Relativas de los GRTM.

Para analizar si el estilo de vida tenía un efecto diferencial en la abundancia de los GRTM, se elaboró una regresión beta cero-inflado, usando como variables predictoras el estilo de vida, edad y sexo de cada participante. Para el género *Eggerthella*, no fue posible ningún tipo de análisis ya que, a pesar de que en el EVI había participantes con presencia de especies del género (1 niño de la ciudad con abundancia relativa del 0.29%; 2 niñas de la ciudad con abundancia relativa de 0.023 % y 0.019 % respectivamente), no fue suficiente para crear modelos significativos. Debido a la carencia de especies y abundancia del género *Eggerthella* en ambos estilos de vida, tampoco se pudieron crear el análisis de su subred. Sin embargo, como se observa en la figura 1, la población con EVI presentó una mayor abundancia del género *Coprococcus* ( $t= 4.547$ ,  $p < 0.001$ ) y *Faecalibacterium* ( $t= 2.142$ ,  $p= 0.03924$ ) que la población con EVNI.

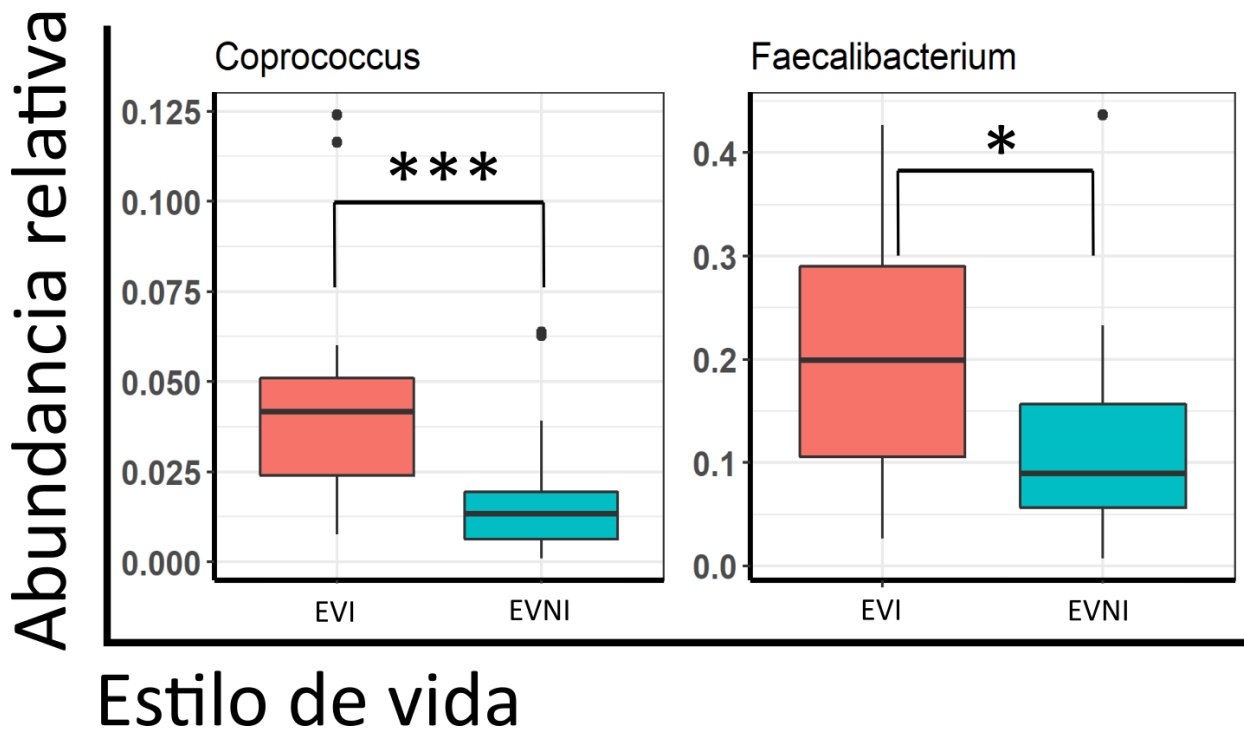




Figura 1. Diagrama de caja de la comparación de las abundancias relativas de los géneros bacterianos relacionados a trastornos mentales (GRTM) entre estilos de vida. En el eje de las ordenadas de cada gráfica se encuentra la abundancia relativa de cada género, mientras que en el eje de las abscisas se encuentra el estilo de vida correspondiente. El estilo de vida industrializado presenta mayor abundancia de los géneros *Coprococcus* y *Faecalibacterium*. Los asteriscos indican el grado de significancia: < 0.05 \*, <0.001 \*\*\*.

### Comparación de las Redes Generales.

Para conocer el porcentaje de diferencia entre las redes generales de la MI entre estilos de vida, se utilizó el análisis de GED. Se encontró que las redes del EVI y EVNI difieren en su topología en un 30 % (Figura 2).

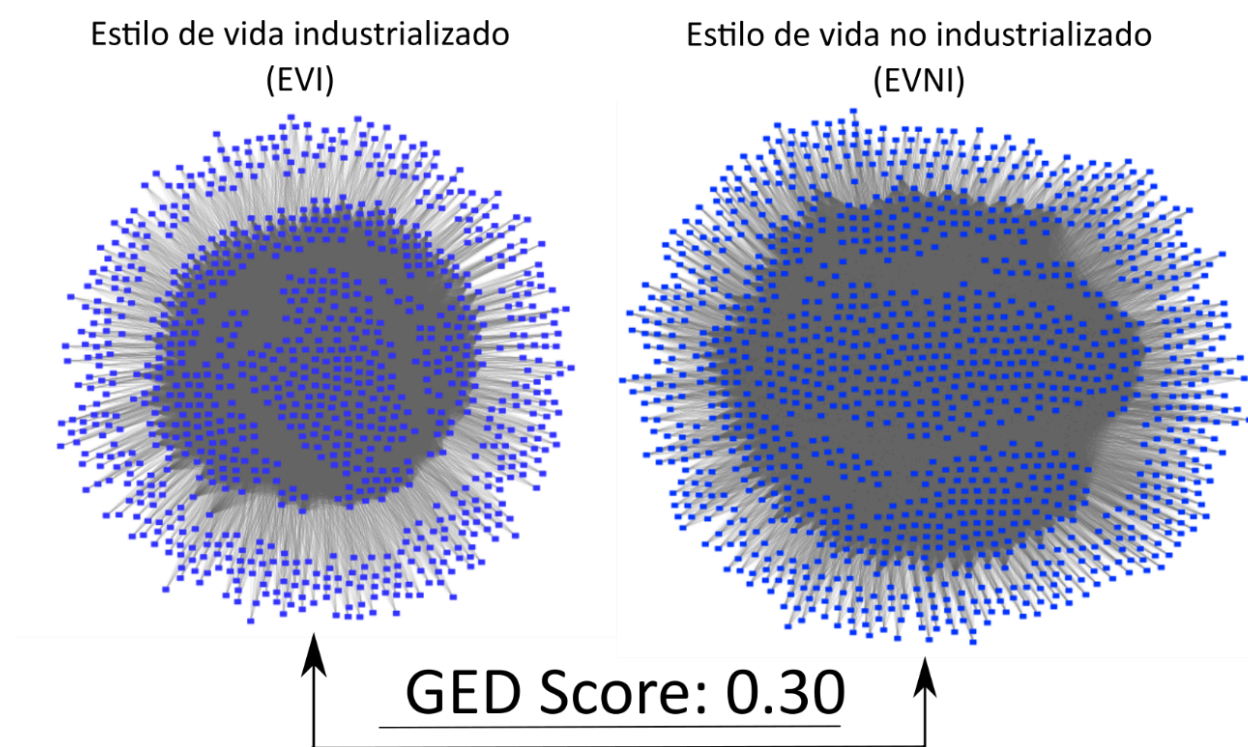


Figura 2. Redes generales del estilo de vida industrializado (EVI) y del estilo de vida no-industrializado (EVNI). Se realizó el análisis de GED entre las dos redes, obteniendo una diferencia del 30 % entre las redes (GED-score: 0.30)

En la figura 3 se desglosa las comparaciones individuales entre sexo de cada estilo de vida. Se puede observar que las redes de los niños del EVI difieren en un 44 % con niños del EVNI. Por su lado, las redes de las niñas del EVI son un 6 % diferentes a las redes de niñas del EVNI. En la comparación entre sexos, encontramos que las redes de las niñas y niños del EVI difieren en un 23 %, mientras que las niñas y niños del EVNI difieren en un 34 %.

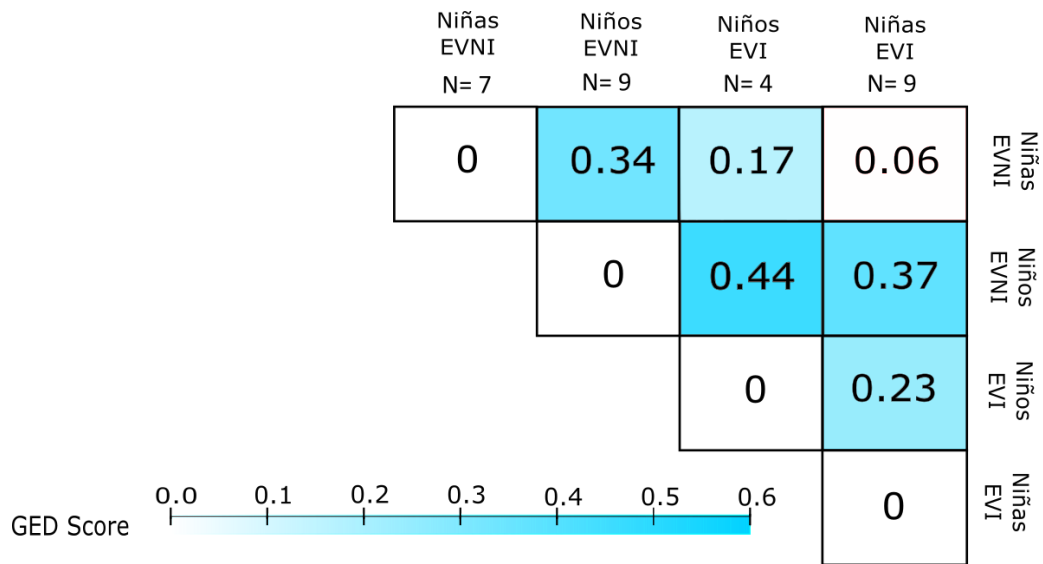


Figura 3. GED-Score de la comparación de las redes generales entre sexos del estilo de vida industrializado (EVI) y el estilo de vida no-industrializado (EVNI). Del lado inferior de la figura, se ilustra el gradiente de la medida de GED-Score (Puntaje de distancia de edición de grafos) entre estilos de vida. La red general de niños de EVI difiere en un 44 % con niños de EVNI, mientras que las redes de las niñas de EVI y niñas de EVNI difieren en sólo un 6 %. Las redes generales de niños de EVI y niñas de EVNI difieren en un 23 %, mientras que las redes de los niños de EVNI y niñas de EVNI difieren en un 34%.

### Parámetros de Conectividad de las Redes Generales de MI

Para poder determinar el grado de conectividad de cada red general de MI, se utilizó los siguientes parámetros: Número de nodos y aristas, densidad, heterogeneidad y centralidad de la red. En primera instancia, podemos observar en la figura 4 que la red de EVNI presenta mayor número de nodos y aristas. Sobre la densidad de red, se puede observar que existe una diferencia del 16.56 % entre estilos

de vida, siendo el EVNI el que tiene una red más densa. La heterogeneidad de las redes generales entre estilos de vida son 8.06 % diferentes, siendo la red del EVI más heterogénea. La centralidad de las redes generales entre estilos de vida difiere en un 3.48 %. Los resultados de la densidad, heterogeneidad y centralidad de red indican que el EVI presenta ligeras diferencias en la conectividad, a pesar de la diferencia tan grande entre número de nodos y aristas.

	EVI		EVNI		Porcentaje de diferencia
Número de nodos	957	-	1205	+	22.94 %
Número de vértices	70767	-	132740	+	60.9 %
Densidad de red	0.155	-	0.183	+	16.56 %
Heterogeneidad de red	1.239	+	1.143	-	8.06 %
Centralidad de red	0.847	+	0.818	-	3.48 %

Figura 4. Parámetros de conectividad de las redes generales entre estilos de vida. La figura muestra las medidas de cada parámetro del estilo de vida industrializado (EVI) y no-industrializado (EVNI) al igual que el porcentaje de diferencia entre cada parámetro. Las cajas que contienen el signo +, indican que tienen una mayor medida del parámetro. El signo - dentro de las cajas indican una menor medida del parámetro. El estilo de vida industrializado presenta mayor medida de heterogeneidad y centralidad de red. El estilo de vida no-industrializado presenta mayor número de nodos, aristas y densidad de red.

### Comparación de la Topología de las Subredes de los GRTM.

#### ***Coprococcus sp.***

Para conocer la estructura y la conectividad de cada subred, se crearon en Cytoscape las subredes del género *Coprococcus* de cada estilo de vida y se presentan en la figura 5. Se usó el análisis de GED, para poder conocer el porcentaje de diferencia en la topología de la subred. Se encontró que son 27 % diferentes.

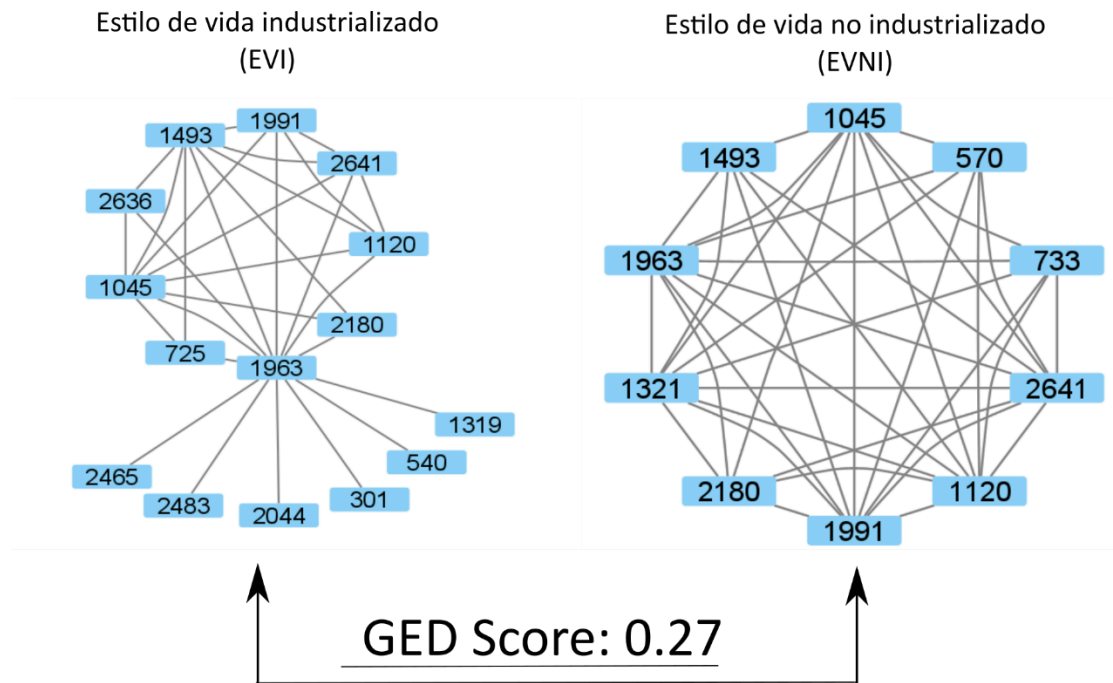


Figura 5. Subred de *Coprococcus* de cada estilo de vida. Podemos ver la representación estructural de la topología de cada subred. Las cajas azules representan códigos asignados a los taxones del género *Coprococcus*. Se presenta una diferencia del 27 % entre las subredes (GED: 0.27)

De igual forma se comparó los parámetros de conectividad de la subred de *Coprococcus* de cada estilo de vida para conocer para el efecto de éste en la MI, más allá de la estructura de la red y su abundancia relativa. Los resultados se presentan en la figura 6. Sobre la densidad de red, se puede observar que existe una diferencia del 100.78 % entre estilos de vida, por lo que la subred del EVNI es sumamente más densa que la subred del EVI. La heterogeneidad de las subredes entre estilos de vida son 130.5 % diferentes, siendo la red del EVI más heterogénea. El resultado anterior se complementa con la centralidad de las subredes entre estilos de vida, ya que difieren en un 132.6 %, siendo la red del EVI más centralizada. Lo anterior indica que la estabilidad de la subred del EVI dependerá en gran medida de que no se interrumpa la conectividad de sus nodos más centralizados, mientras que la conectividad de la subred del EVNI está más homogéneamente distribuida.

	EVI		EVNI		Porcentaje de diferencia
Número de nodos	15	+	10	-	40 %
Número de vértices	30	-	39	+	26.08 %
Densidad de red	0.286	-	0.867	+	100.78 %
Heterogeneidad de red	0.894	+	0.188	-	130.5 %
Centralidad de red	0.824	+	0.167	-	132.6 %

Figura 6. Parámetros de conectividad de las subredes de *Coprococcus* entre estilos de vida. La figura muestra las medidas de cada parámetro del estilo de vida industrializado y no-industrializado al igual que el porcentaje de diferencia entre cada parámetro. Las cajas que contienen el signo +, indican que tienen una mayor medida del parámetro. El signo - dentro de las cajas indica una menor medida del parámetro. El estilo de vida industrializado (EVI) presenta mayor medida de heterogeneidad y centralidad de la subred. El estilo de vida no-industrializado (EVNI) presenta mayor densidad de red.

### ***Faecalibacterium sp.***

Para conocer la estructura y la conectividad de cada subred, se crearon en Cytoscape las subredes del género *Faecalibacterium* de cada estilo de vida y se presentan en la figura 7. Se usó el análisis de GED, para poder conocer el porcentaje de diferencia en la topología de la red. Se encontró que son 31 % diferentes.

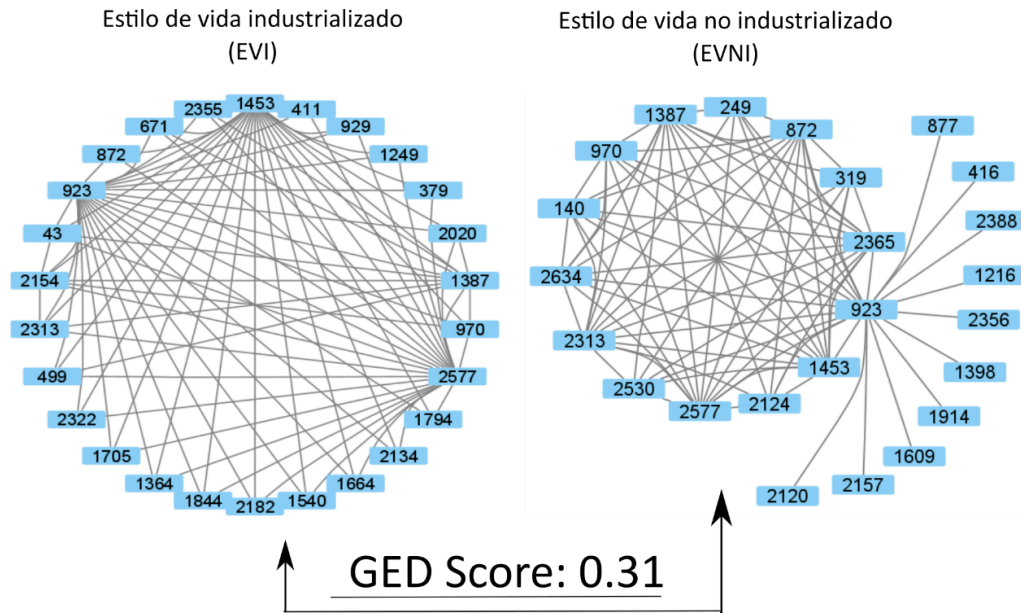


Figura 7. Subred de *Faecalibacterium* de cada estilo de vida. Podemos ver la representación estructural de la topología de cada subred. Las cajas azules representan códigos asignados a los taxones del género *Faecalibacterium*. Se presenta una diferencia del 31 % entre las subredes (GED: 0.31)

En la figura 8 se presentan la comparación de los parámetros de conectividad de la subred de *Faecalibacterium* entre estilos de vida. Complementando los resultados de la figura 6, podemos observar que, en términos de número de nodos y aristas, hay escasa diferencia entre las subredes, ya que solo difieren en 2 nodos. Sobre la densidad de red, se puede observar que existe una diferencia del 16.54 % entre estilos de vida, siendo el EVNI el que tiene una subred ligeramente más densa, esto a pesar de contener el mismo número de aristas. La heterogeneidad de la subred es 23.57 % diferentes entre estilos de vida, siendo la red del EVI más heterogénea. Por último, la centralidad de las subredes entre estilos de vida difiere en un 5.6 %, siendo la red del EVI marginalmente más centralizada. Estos últimos resultados, indican que a pesar que la subred de *Faecalibacterium* presenta una nula diferencia en el número de nodos y aristas, la conectividad de la subred es diferente entre estilos de vida.

	EVI		EVNI		Porcentaje de diferencia
Número de nodos	26	+	24	-	8 %
Número de vértices	83	=	83	=	0 %
Densidad de red	0.255	-	0.301	+	16.54 %
Heterogeneidad de red	1.086	+	0.857	-	23.57 %
Centralidad de red	0.807	+	0.763	-	5.6 %

Figura 7. Parámetros de conectividad de las subredes de *Faecalibacterium* entre estilos de vida. La figura muestra las medidas de cada parámetro del estilo de vida industrializado y no-industrializado al igual que el porcentaje de diferencia entre cada parámetro. Las cajas que contienen el signo +, indican que tienen una mayor medida del parámetro. El signo - dentro de las cajas indican una menor medida del parámetro. El signo =, indica que tienen medidas completamente iguales. El estilo de vida industrializado presenta mayor medida número de nodos y aristas, al igual que de heterogeneidad y centralidad de la subred. El estilo de vida no-industrializado presenta una mayor densidad de red.

## Discusión

El estilo de vida engloba una gran cantidad de variables que influyen diariamente en la conducta del individuo. Por igual, en la MI interactúan en conjunto miles de agentes que influyen el estado de salud del huésped. La conducta del huésped con su entorno sumado a la influencia que tiene la MI en el funcionamiento óptimo del SNC, crea una red en donde interactúan millones de variables difíciles de ser analizadas individualmente. El análisis de cada parte que compone la red es insuficiente para explicar el efecto holístico de la interacción de todas las variables. Es por lo anterior, que este estudio tuvo como objetivo complementar la comparación de las abundancias relativas de grupos bacterianos al estudiar el efecto que tienen el estilo de vida en la dinámica de la MI, mediante el uso del análisis de redes. A partir de esto, se realizó un análisis de parámetros de conectividad para determinar de qué manera los estilos de vida afectan a los géneros bacterianos *Coprococcus*, *Eggerthella* y *Faecalibacterium* que se ha descubierto que tiene una gran importancia en la salud mental.

Conforme a los resultados de los estudios de Sánchez-Quinto y colaboradores (2020), podemos afirmar que existen diferencias en la diversidad y abundancia de distintos grupos bacterianos entre el EVI y EVNI. Sin embargo, en el presente estudio encontramos que el EVI presenta una mayor abundancia relativa de los géneros *Coprococcus* y *Faecalibacterium* en comparación con el EVNI. Este resultado no apoya nuestra primera predicción, ya que se hipotetizó que la menor diversidad bacteriana registrada del EVI en el estudio de Sánchez-Quinto (2020), se traduciría en una menor abundancia de los GRTM. La falla de esta predicción podría radicar en que los GRTM se adaptan favorablemente a distintas condiciones ambientales que le imponga el huésped, por lo que el EVI podría tener características que provocan la proliferación de *Coprococcus* y *Faecalibacterium* en la MI, lo cual no está relacionado a la diversidad general bacteriana. Aunado a esto, la reducida diversidad en el EVI provocaría una reducción de la competencia entre grupos bacterianos, lo que podría resultar en un aumento de abundancia de estos dos géneros si son importantes para la salud general del huésped. Estos resultados son relevantes, ya



que, como se ha citado hasta ahora, se ha identificado que la reducción de abundancia de *Coprococcus* y *Faecalibacterium* se traducen en un riesgo para la salud mental (Nikolova et al., 2021; Valles-Colomer et al., 2019), lo cual podría indicar que la población con un EVNI podría estar en riesgo psicológico. Debido a que no se obtuvo ninguna medida psicométrica del estado de salud mental de los participantes, no podríamos negar ni afirmar lo anterior, pero se abren las puertas a investigaciones futuras. Sin embargo, estos resultados proponen una revisión de los estudios sobre la búsqueda de biomarcadores microbianos del riesgo de padecer algún trastorno, ya que la gran mayoría de los estudios usa población con un EVI, pero el estilo de vida tiene un efecto directo en la abundancia de los GRTM. Aunado a lo anterior, una mayor abundancia de cierto género dependerá su funcionalidad en relación a las características del huésped. Por ejemplo, para *Coprococcus*, se ha encontrado que su abundancia a nivel de género está inversamente correlacionada a la aparición de trastornos mentales (Notting et al., 2023). Sin embargo, se ha encontrado en un estudio murino (Kyoung et al., 2023) que aumentar la abundancia de la especie *C. comes* mejora la inflamación hepática, solo si no se encuentra el huésped en una dieta alta en sal, ya que con dicha dieta el aumento de la especie provoca un aumento de la inflamación renal y hepática, junto con incremento de la presión arterial. En relación a *Faecalibacterium*, la gran abundancia del género se ha considerado como un biomarcador de salud (Martín et al., 2023). Por otro lado, también se ha encontrado una gran abundancia de la especie *F. Prausnitzii* en infantes obesos de la India en comparación con personas no-obesas (Balamurugan et al., 2010). Todo lo anterior, ilustra la dificultad de solo comparar la abundancia de las especies para generar conclusiones sobre su funcionalidad sistémica.

Con lo que respecta a los análisis de redes, también encontramos que existe una diferencia del 30% de las redes generales entre estilos de vida. Este resultado podría ser explicado por las diferencias en la diversidad entre estilos de vida reportado por Sánchez-Quinto (2020), ya que al presentarse más especies y taxones únicos en el EVNI, se traduciría a un incremento en su número de nodos y aristas en

la red general, lo cual fue confirmado con el análisis de su topología. Sin embargo, encontramos una diferencia mínima entre la conectividad de la red general. A nivel de análisis de redes generales, podríamos concluir que más allá de las diferencias en el número de nodos y aristas, es escasa la diferencia en la conectividad y/o de la robustez ya que la distribución de la conectividad es relativamente homogénea en ambas redes.

Al comparar las redes generales entre sexos, podemos encontrar que el estilo de vida actúa de manera diferencial entre niñas y niños. Se ha mencionado que las hormonas sexuales provocan cambios en la diversidad de la MI (Jašarević et al., 2016), por lo que se puede explicar la diferencia del 23 % entre niñas y niños del EVI y una diferencia del 34 % entre niñas y niños del EVNI. Sin embargo, en el estudio de Barajas-Martínez y colaboradores (2021), se modeló de manera novedosa la interacción entre múltiples sistemas fisiológicos en forma de redes. Entre los resultados más relevantes, encontramos que las redes fisiológicas de los hombres, en relación a su conectividad, son menos robustas que las redes de las mujeres. Esto se traduce a que las redes de los hombres están en riesgo de colapsar ante percolaciones que afecten a las subredes o nodos más importantes. Estos resultados se pueden relacionar con los del presente estudio, ya que se puede observar que el estilo de vida, visto como una perturbación, provocó una diferencia del 44 % en los niños entre el EVI y el EVNI. Al observar a las niñas, podemos observar que el estilo de vida solo provocó una diferencia del 6 % entre sus redes generales. Esto podría explicarse ya que a nivel fisiológico y de la MI, los hombres presentan una menor robustez y las perturbaciones aleatorias provocan un mayor cambio en las redes. Esto es demasiado relevante, ya que no solo es necesario estudiar más el efecto del estilo de vida en la MI, sino el efecto en conjunto con el sexo.

Al observar el efecto del estilo de vida en las subredes de los GRTM, podemos observar que la abundancia del género no está relacionada directamente a la conectividad de su subred. En relación al género *Coprococcus*, podemos observar en primera instancia que existe una diferencia del 27 % entre la

topología de las redes entre estilos de vida. En comparación con la subred del EVNI, la subred del EVI presenta una notable baja conectividad entre los nodos debido a su menor densidad de red. Por igual, la subred del EVI presenta una enorme diferencia en la heterogeneidad y centralidad de su red en comparación con el EVNI. Lo anterior indica una baja robustez de *Coprococcus* en el EVI, por lo que podría colapsar con alguna perturbación aleatoria que ataque a sus nodos centrales o su arista, ya que existe una mala distribución de la conectividad total.

Por otro lado, las subredes del género *Faecalibacterium* entre estilos de vida son 31 % diferentes. Sin embargo, a pesar de que ambas subredes presentan sólo una diferencia de 2 nodos, la conectividad presenta diferencias notables. La subred del EVI presenta una red menos densa y con mayor heterogeneidad que la subred del EVNI. Estos resultados denotarían una menor robustez de *Faecalibacterium* en el EVI, sin embargo, a diferencia de los resultados obtenidos con *Coprococcus*, las diferencias en la conectividad de la subred entre los estilos de vida son marginales. Sin lugar a dudas, lo más relevante de los resultados con las subredes, es que a pesar que el EVI presenta una mayor abundancia relativa de los géneros *Coprococcus* y *Faecalibacterium*, no se traducen en una mayor conectividad de sus subredes. Podríamos concluir que la subred de *Coprococcus* es un género altamente vulnerable, ya que una perturbación, como podría ser el estilo de vida, tiene efectos en su abundancia relativa y en la conectividad de su subred.

Los resultados hasta ahora presentados, podrían indicar un sesgo fundamental en los estudios de la MI en búsqueda de biomarcadores bacterianos relacionados a algún trastorno mental. Los estudios citados hasta ahora, indicarían que la población del EVNI está en riesgo de la presencia de algún trastorno mental por su baja abundancia en dos de los GRTM en su MI. No obstante, en relación a su subred del género *Coprococcus*, su alta conectividad y homogeneidad de la subred, los haría menos vulnerables a afectaciones disbióticas por perturbaciones ambientales, por lo que basarnos en la disminución de la abundancia podría no ser explicación suficiente de la funcionalidad óptima del género.

Todo esto implica que, en primer lugar, es necesario que investigadores alrededor del mundo diversifiquen sus poblaciones usando participantes de diferentes estilos de vida, para poder determinar la forma en la que grupos bacterianos clave para la salud se componen y comportan en relación al ambiente del huésped. En segundo lugar, es importante seguir comparando la composición de la MI entre participantes sanos o pacientes de algún trastorno mental, pero el uso exclusivo de la abundancia relativa de cada especie no ilustra el verdadero estado disbiótico. La abundancia diferencial de los GRTM en pacientes con algún trastorno, podría indicar el colapso de su subred y por ende una disminución de su proliferación, por lo que es indispensable que se pueda responder estos cuestionamientos para poder seguir adelante en esta afirmación sobre su importancia en la salud mental.

Es importante mencionar que, entre las limitaciones del presente estudio, destaca el tamaño relativamente pequeño de la muestra y la ausencia de cualquier aspecto medible de salud mental. En este caso, únicamente se puede confirmar que los GRTM tienen dinámica diferencial con base al estilo de vida. Sin embargo, observar que desde la edad infantil existen cambios en la MI en función del estilo de vida (Sánchez-Quinto et al., 2020), sumado a que la literatura establece que después de los 10 años la MI se vuelve estable por largos periodos de tiempo (Bauer et al., 2018; Hildebrand et al., 2021), podríamos asumir que, al seguir desarrollándose en el mismo ambiente, los resultados del presente estudio serán encontrados en dicha población en edad adulta. Un estudio longitudinal, en específico en comunidades con EVNI, de las cuales es nula la información y estudios sobre su MI, confirmará si la conectividad de sus redes microbianas se preserva a lo largo de los años. Aunado a esto, si se pudiera aplicar instrumentos psicométricos en cada etapa de la vida, no solo ayudará a entender el estado de salud mental en zonas con EVNI, lo cual es hasta ahora desconocido, sino que podríamos observar si una alta conectividad presente en sus subredes de los GRTM se traduce a una protección a la presencia de trastornos mentales. Otra limitación, es que fue imposible comparar el género *Eggerthella* entre poblaciones debido a la nula abundancia. A pesar de que solo un par de participantes del EVI

presentaban un indicio de abundancia de alguna especie de este género, será necesario tener muestras poblacionales más grandes para poder captar la posible relevancia psicobiológica de dicho género. Por otro lado, este género podría ser sumamente importante en la salud mental, ya que su alta abundancia en ciertas psicopatologías (Nikolova et al., 2021), podría indicar que su mera presencia actúa de manera sinérgica con los otros GRTM para poder desencadenar los trastornos.

Como Nikolova y colaboradores (2021) mencionan, es necesario más trabajo para establecer biomarcadores bacterianos certeros relacionados a la patogénesis de un trastorno mental específico. Nuestros resultados apoyan esta afirmación, ya que agregaremos que estamos lejos de entender la función de cualquier biomarcador psicológico al reducir su análisis a la comparación de abundancias de especies y usar solamente poblaciones del EVI. Indudablemente, en un futuro, la incorporación del estado de la MI será una herramienta fundamental para el diagnóstico de cualquier trastorno, ya que gran parte de los cambios sistémicos característicos en cualquier persona tienen relación con la actividad microbiana. Sin embargo, es necesario seguir evidenciando la importancia del estilo de vida y sus variables en las investigaciones psicológicas.

## Referencias

- Alcock, J., Maley, C. C. & Aktipis, C. A. (2014). Is eating behavior manipulated by the gastrointestinal microbiota? Evolutionary pressures and potential mechanisms. *Bioessays*, 36(10), 940-949.
- Arboleya, S., Sánchez, B., Milani, C., Duranti, S., Solís, G., Fernández, N., de los Reyes-Gavilán, G., Ventura, M., Margolles, A., & Gueimonde, M. (2015). Intestinal microbiota development in preterm neonates and effect of perinatal antibiotics. *The Journal of pediatrics*, 166(3), 538- 544.
- Arrieta, M. C., Stiemsma, L. T., Amenyogbe, N., Brown, E. M. & Finlay, B. (2014). The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Frontiers in immunology*, 5, 427.
- Averina, O. V., Zorkina, Y. A., Yunes, R. A., Kovtun, A. S., Ushakova, V. M., Morozova, A. Y., Kostyuk, G. P., Danilenko, V. N. & Chekhonin, V. P. (2020). Bacterial Metabolites of Human Gut Microbiota Correlating with Depression. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23).  
<https://doi.org/10.3390/ijms21239234>
- Balamurugan, R., George, G., Kabeerdoss, J., Hepsiba, J., Chandragunasekaran, A. M., & Ramakrishna, B. S. (2010). Quantitative differences in intestinal *Faecalibacterium prausnitzii* in obese Indian children. *British Journal of Nutrition*, 103(3), 335-338.
- Barajas-Martínez, A., Ibarra-Coronado, E., Fossion, R., Toledo-Roy, J. C., Martínez-Garcés, V., López-Rivera, J. A., ... & Rivera, A. L. (2021). Sex differences in the physiological network of healthy young subjects. *Frontiers in Physiology*, 12, 678507.
- Bastiaanssen, T. F. S., Cusotto, S., Claesson, M. J., Clarke, G., Dinan, T. G. & Cryan, J. F. (2020). Guttled! Unraveling the Role of the Microbiome in Major Depressive Disorder. *Harvard REVIEW of Psychiatry*, 28(1), 26-39. <https://doi.org/10.1097/HRP.0000000000000243>
- Battson, M. L., Lee, D. M., Jarrell, D. K., Hou, S., Ecton, K. E., Weir, T. L. & Gentile, C. L. (2018). Suppression of gut dysbiosis reverses Western diet-induced vascular dysfunction. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 314(5), E468-E477.

- Bauer, M. A., Kainz, K., Carmona-Gutierrez, D., & Madeo, F. (2018). Microbial wars: competition in ecological niches and within the microbiome. *Microbial cell*, 5(5), 215.
- Bokulich, N. A., Chung, J., Battaglia, T., Henderson, N., Jay, M., Li, H., Lieber, A., Wu, F., Perez- Perez, G., Chen, Y., Schweizer, W., Zheng, X., Contreras, M., Dominguez-Bello, M., & Blaser, M. J. (2016). Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. *Science translational medicine*, 8(343), 343ra82-343ra82.
- Boyd, J. T., LoCoco, P. M., Furr, A. R., Bendele, M. R., Tram, M., Li, Q., Chang, F., Colley, M., Samenuk, G., Arris, D., Locke, E., Bach, S., Tobon, A., Ruparel, S., & Hargreaves, K. M. (2021). Elevated dietary  $\omega$ -6 polyunsaturated fatty acids induce reversible peripheral nerve dysfunction that exacerbates comorbid pain conditions. *Nature Metabolism*, 1-12.
- Brunt, V. E., Gioscia-Ryan, R. A., Casso, A. G., VanDongen, N. S., Ziemba, B. P., Sapinsley, Z. J., Richey, J., Zigler, M., Neilson, A., Davy, K., & Seals, D. R. (2020). Trimethylamine-N-oxide promotes age-related vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in mice and healthy humans. *Hypertension*, 76(1), 101-112.
- Brushett, S., Sinha, T., Reijneveld, S. A., De Kroon, M. L., & Zhernakova, A. (2020). The effects of urbanization on the infant gut microbiota and health outcomes. *Frontiers in pediatrics*, 8, 408.
- Callahan, B. J., McMurdie, P. J., & Holmes, S. P. (2017). Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME journal*, 11(12), 2639- 2643. <https://doi.org/10.1038/ismej.2017.119>
- Carabotti, M., Scirocco, A., Maselli, M. A., & Severi, C. (2015). The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of gastroenterology: quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*, 28(2), 203.
- Carrera-Bastos, P., Fontes-Villalba, M., O'Keefe, J. H., Lindeberg, S., & Cordain, L. (2011). The western diet and lifestyle and diseases of civilization. *Research Reports in Clinical Cardiology*, 2, 15-35.

- Casaburi, G., Duar, R. M., Brown, H., Mitchell, R. D., Kazi, S., Chew, S., Cagney, O., Flannery, R., Sylvester, K., Frese, S., Henrick, B., & Freeman, S. L. (2021). Metagenomic insights of the infant microbiome community structure and function across multiple sites in the United States. *Scientific reports*, 11(1), 1-12.
- Chin, C. H., Chen, S. H., Wu, H. H., Ho, C. W., Ko, M. T., & Lin, C. Y. (2014). cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome. *BMC systems biology*, 8(4), 1-7.
- Chisholm, D., Sweeny, K., Sheehan, P., Rasmussen, B., Smit, F., Cuijpers, P., & Saxena, S. (2016). Scaling-up treatment of depression and anxiety: a global return on investment analysis. *The Lancet Psychiatry*, 3(5), 415-424
- Chu, C., Murdock, M. H., Jing, D., Won, T. H., Chung, H., Kressel, A. M., Tsaava, T., Addorisio, M., Putzel, G., Zhou, L., Bessman, N., Yang, R., Moriyama, S., Parkhurst, C., Li, A., Meyer, H., Teng, F., Chavan, S., Tracey, K., ... & Artis, D. (2019). The microbiota regulate neuronal function and fear extinction learning. *Nature*, 574(7779), 543-548.
- Clemente, J. C., Ursell, L. K., Parfrey, L. W., & Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6), 1258-1270.
- Coyte, K. Z., Schluter, J., & Foster, K. R. (2015). The ecology of the microbiome: Networks, competition, and stability. *Science*, 350(6261), 663-666. <https://doi.org/10.1126/science.aad2602>
- David, L. A., Maurice, C. F., Carmody, R. N., Gootenberg, D. B., Button, J. E., Wolfe, B. E., Ling, A. B., Devlin, A. S., Varma, Y., Fischbach, M. A., Biddinger, S. A., Dutton, R. J., & Turnbaugh, P. J. (2014). Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*, 505(7484), 559-563. <https://doi.org/10.1038/nature12820>
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., & Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A*



107,(33) 14691–14696. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005963107>

Desai, M. S., Seekatz, A. M., Koropatkin, N. M., Kamada, N., Hickey, C. A., Wolter, M., Pudlo, M., Kitamoto, S., Terrapon, N., Muller, A., Young, V., Henrissat, B., Wilmes, P., Stappenbeck, T., Núñez, G., & Martens, E. C. (2016). A dietary fiber-deprived gut microbiota degrades the colonic mucus barrier and enhances pathogen susceptibility. *Cell*, 167(5), 1339-1353.

Dominguez-Bello, M. G., Costello, E. K., Contreras, M., Magris, M., Hidalgo, G., Fierer, N., & Knight, R. (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(26), 11971-11975.

Doncheva, N. T., Assenov, Y., Domingues, F. S., & Albrecht, M. (2012). Topological analysis and interactive visualization of biological networks and protein structures. *Nature protocols*, 7(4), 670-685.

Dong, J., & Horvath, S. (2007). Understanding network concepts in modules. *BMC systems biology*, 1(1), 1-20.

Du, G., Huang, H., Zhu, Q., & Ying, L. (2021). Effects of cat ownership on the gut microbiota of owners. *Plos one*, 16(6), e0253133.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. ENSANUT. (2018). Presentación de resultados.

Evrensel, A., Ünsalver, B. Ö., & Ceylan, M. E. (2020). Neuroinflammation, Gut-Brain Axis and Depression. *Psychiatry Investigation*, 17(1), 2-8. <https://doi.org/10.30773/pi.2019.08.09>

Faith, J. J., Guruge, J., Charbonneau, M., Subramanian, S., Seedorf, H., Goodman, A., Clemente, J., Knight, R., Heath, A., Leibel, R., Rosenbaum, M., & Gordon, J. (2013). The long-term stability of the human gut microbiota. *Science*, 341(6141). DOI: 10.1126/science.1237439

Fernandes, A. B., da Silva, J. A., Almeida, J., Cui, G., Gerfen, C. R., Costa, R. M., & Oliveira-Maia, A. J.

- (2020). Postingestive modulation of food seeking depends on vagus-mediated dopamine neuron activity. *Neuron*, 106(5), 778-788.
- Fragiadakis, G. K., Smits, S. A., Sonnenburg, E. D., Van Treuren, W., Reid, G., Knight, R., Manjurano, A., Chagalucha, J., Dominguez-Bello, M., Leach, J., & Sonnenburg, J. L. (2019). Links between environment, diet, and the hunter-gatherer microbiome. *Gut Microbes*, 10(2), 216-227.
- Gabanyi, I., Lepousez, G., Wheeler, R., Vieites-Prado, A., Nissant, A., Wagner, S., Moigneu, C., Dulauroy, S., Hicham, S., Polomack, B., Verny, F., Rosenstiel, P., Renier, N., Boneca, I., Eberl, G., & Lledo, P. M. (2022). Bacterial sensing via neuronal Nod2 regulates appetite and body temperature. *Science*, 376(6590), eabj3986.
- Gardner, C. M., Hoffman, K., Stapleton, H. M., & Gunsch, C. K. (2020). Exposures to Semivolatile Organic Compounds in Indoor Environments and Associations with the Gut Microbiomes of Children. *Environmental Science & Technology Letters*, 8(1), 73-79.
- Gao, X., Xiao, B., Tao, D., & Li, X. (2010). A survey of graph edit distance. *Pattern Analysis and applications*, 13, 113-129.
- Ghazzali, N., & Ouellet, A. (2017). Comparative Study of Centrality Measures on Social Networks. In *Information Systems for Crisis Response and Management in Mediterranean Countries: 4th International Conference, ISCRAM-med 2017, Xanthi, Greece, October 18-20, 2017, Proceedings 4* (pp. 3-16). Springer International Publishing.
- Gosalbes, M. J., Durbán, A., Pignatelli, M., Abellan, J. J., Jimenez-Hernandez, N., Pérez-Cobas, A. E., Latorre, A., & Moya, A. (2011). Metatranscriptomic approach to analyze the functional human gut microbiota. *PLoS one*, 6(3), e17447.
- Goyal, M. S., Venkatesh, S., Milbrandt, J., Gordon, J. I., & Raichle, M. E. (2015). Feeding the brain and nurturing the mind: linking nutrition and the gut microbiota to brain development. *Proceedings*

- of the National Academy of Sciences, 112(46), 14105-14112.
- Grathwohl, S., Quansah, E., Maroof, N., Steiner, J. A., Spycher, L., Benmansour, F., Duran-Pacheco, G., Siebourg-Polster, J., Oroszlan-Szovik, K., Remy, H., Haenggi, M., Stawiski, M., Selhausen, M., Mailver, P., Wolfert, A., Emrich, T., Madaj, Z., Su, A., Escobar Galvis, M., ... & Britschgi, M. (2021). Specific immune modulation of experimental colitis drives enteric alpha-synuclein accumulation and triggers age-related Parkinson-like brain pathology. *Free Neuropathology*, 2, 13-13.
- Guaraldi, F., & Salvatori, G. (2012). Effect of Breast and Formula Feeding on Gut Microbiota Shaping in Newborns. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2.
- Guzzi, P. y Roy, S. (2020). Biological Network Analysis. Elsevier.
- Hardin, J. S., Jones, N. A., Mize, K. D., & Platt, M. (2021). Affectionate Touch in the Context of Breastfeeding and Maternal Depression Influences Infant Neurodevelopmental and Temperamental Substrates. *Neuropsychobiology*, 80(2), 158-175.
- Hildebrand, F., Gossmann, T. I., Frioux, C., Özkurt, E., Myers, P. N., Ferretti, P., Kuhn, M., Bahram, M., Nielsen, H., & Bork, P. (2021). Dispersal strategies shape persistence and evolution of human gut bacteria. *Cell host & microbe*.
- Hold, G. L. (2014). Western lifestyle: a 'master' manipulator of the intestinal microbiota?. *Gut*, 63(1), 5-6.
- Holly, J. M., Biernacka, K., Maskell, N., & Perks, C. M. (2020). Obesity, diabetes and COVID-19: an infectious disease spreading from the east collides with the consequences of an unhealthy western lifestyle. *Frontiers in Endocrinology*, 11, 665.
- Huitzil, S., Sandoval-Motta, S., Frank, A., & Aldana, M. (2018). Modeling the Role of the Microbiome in Evolution. *Frontiers in Physiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01836>
- Iyer, S., Killingback, T., Sundaram, B., & Wang, Z. (2013). Attack robustness and centrality of complex networks. *PloS one*, 8(4), e59613.
- Jašarević, E., Morrison, K. E., & Bale, T. L. (2016). Sex differences in the gut microbiome–brain axis across

- the lifespan. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1688), 20150122.
- Karimi, B., Maron, P. A., Chemidlin-Prevost Boure, N., Bernard, N., Gilbert, D., & Ranjard, L. (2017). Microbial diversity and ecological networks as indicators of environmental quality. *Environmental Chemistry Letters*, 15, 265-281.
- Kelly, J. R., Borre, Y., O' Brien, C., Patterson, E., El Aidy, S., Deane, J., Kennedy, P. J., Beers, S., Scott, K., Moloney, G., Hoban, A. E., Scott, L., Fitzgerald, P., Ross, P., Stanton, C., Clarke, G., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2016). Transferring the blues: Depression-associated gut microbiota induces neurobehavioural changes in the rat. *Journal of Psychiatric Research*, 82, 109-118.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2016.07.019>
- Kim, H., & Anderson, R. (2013). An experimental evaluation of robustness of networks. *IEEE Systems Journal*, 7(2), 179-188.
- Koenig, J. E., Spor, A., Scalfone, N., Fricker, A. D., Stombaugh, J., Knight, R., Angenent, T., & Ley, R. E. (2011). Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108 (1), 4578-4585.
- Kopp, W. (2019). How western diet and lifestyle drive the pandemic of obesity and civilization diseases. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 12, 2221.
- Korpela, K., & de Vos, W. M. (2016). Antibiotic use in childhood alters the gut microbiota and predisposes to overweight. *Microbial Cell*, 3(7), 296-298.
- Korpela, K., Renko, M., Vänni, P., Paalanen, N., Salo, J., Tejesvi, M. V., Koivusaari, P., Ojaniemi, M., Pokka, T., Kaukola, T., Pirttilä, A., & Tapiainen, T. (2020). Microbiome of the first stool and overweight at age 3 years: A prospective cohort study. *Pediatric Obesity*, 15(11), e12680.
- Kyoung, J., Alvirer Plata, A., Mei, X., Atluri, R., & Yang, T. (2023). Salt-dependent Role of Human Gut Commensal Coprococcus comes in Blood Pressure and Inflammation. *Physiology*, 38(S1),

5733608.

Laursen, M. F., Andersen, L. B., Michaelsen, K. F., Mølgaard, C., Trolle, E., Bahl, M. I., & Licht, T. R. (2016).

Infant gut microbiota development is driven by transition to family foods independent of maternal obesity. *Msphere*, 1(1), e00069-15.

Layeghifard, M., Hwang, D. M., & Guttman, D. S. (2017). Disentangling interactions in the microbiome: a network perspective. *Trends in microbiology*, 25(3), 217-228.

Lee, J. Y., Cevallos, S. A., Byndloss, M. X., Tiffany, C. R., Olsan, E. E., Butler, B. P., Young, B., Rogers, A., Nguyen, H., Kim, K., Choi, S., Bae, E., Lee, J., Min, U., Lee, D., & Bäumlér, A. J. (2020). High-fat diet and antibiotics cooperatively impair mitochondrial bioenergetics to trigger dysbiosis that exacerbates pre-inflammatory bowel disease. *Cell Host & Microbe*, 28(2), 273-284.

Li, S. S., Zhu, A., Benes, V., Costea, P. I., Hercog, R., Hildebrand, F., Huerta-Cepas, J., Nieuwdorp, M., Salojärvi, J., Voigt, A., Zeller, G., Sunagawa, S., de Vos, W., & Bork, P. (2016). Durable coexistence of donor and recipient strains after fecal microbiota transplantation. *Science*, 352(6285), 586-589.

Liu, T. C., Kern, J. T., Jain, U., Sonnek, N. M., Xiong, S., Simpson, K. F., VanDussen, K., Winkler, E., Haritunians, T., Malique, A., Lu, Q., Sasaki, Y., Storer, S., Diamond, M., Head, R., Diamond, M., McGovern, D., & Stappenbeck, T. S. (2021). Western diet induces Paneth cell defects through microbiome alterations and farnesoid X receptor and type I interferon activation. *Cell Host & Microbe*, 29(6), 988-1001.

Lipski, E. (2010). Traditional non-Western diets. *Nutrition in clinical practice*, 25(6), 585-593.

Lokmer, A., Aflalo, S., Amougou, N., Lafosse, S., Froment, A., Tabe, F. E., Poyet, M., Groussin, P., Said-Mohamed, R., & Ségurel, L. (2020). Response of the human gut and saliva microbiome to urbanization in Cameroon. *Scientific reports*, 10(1), 1-15.

Lopez, D. A., Foxe, J. J., Mao, Y., Thompson, W. K., Martin, H. J., & Freedman, E. G. (2021). Breastfeeding

- Duration Is Associated With Domain-Specific Improvements in Cognitive Performance in 9–10-Year-Old Children. *Frontiers in public health*, 9, 434.
- Lyytimäki, J., Petersen, L. K., Normander, B., & Bezák, P. (2008). Nature as a nuisance? Ecosystem services and disservices to urban lifestyle. *Environmental Sciences*, 5(3), 161-172.
- Martín, R., Rios-Covian, D., Huillet, E., Auger, S., Khazaal, S., Bermúdez-Humarán, L. G., Sokol, H., Chatel, J.-M., & Langella, P. (2023). Faecalibacterium: a bacterial genus with promising human health applications. *FEMS Microbiology Reviews*, 47(4), fuad039.
- Makki, K., Deehan, E. C., Walter, J., & Bäckhed, F. (2018). The impact of dietary fiber on gut microbiota in host health and disease. *Cell host & microbe*, 23(6), 705-715.
- Makris, A. P., Karianaki, M., Tsamis, K. I., & Paschou, S. A. (2021). The role of the gut-brain axis in depression: Endocrine, neural, and immune pathways. *Hormones*, 20(1), 1-12.  
<https://doi.org/10.1007/s42000-020-00236-4>
- Mancabelli, L., Milani, C., Lugli, G. A., Turrone, F., Ferrario, C., van Sinderen, D., & Ventura, M. (2017). Meta-analysis of the human gut microbiome from urbanized and pre-agricultural populations. *Environmental microbiology*, 19(4), 1379-1390.
- Mao, J. H., Kim, Y. M., Zhou, Y. X., Hu, D., Zhong, C., Chang, H., Brislawn, C., Fansler, S., Langley, S., Wang, L., Loulou Peisl, B., Celniker, S., Threadgill, D., Wilmes, P., Orr, G., Metz, T., Jansson, J., & Snijders, A. M. (2020). Genetic and metabolic links between the murine microbiome and memory. *Microbiome*, 8(1), 1-14.
- Marchesi, J. R., & Ravel, J. (2015). The vocabulary of microbiome research: A proposal. *Microbiome*, 3(1), 31. <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0094-5>
- Margolis, A. E., Ramphal, B., Pagliaccio, D., Banker, S., Selmanovic, E., Thomas, L. V., Factor-Litvak, P., Perera, F., Peterson, B., Rundle, A., Herbstman, J., Goldsmith, J., & Rauh, V. (2021). Prenatal exposure to air pollution is associated with childhood inhibitory control and adolescent

- academic achievement. *Environmental Research*, 202, 111570.
- Marizzoni, M., Cattaneo, A., Mirabelli, P., Festari, C., Lopizzo, N., Nicolosi, V., Mombelli, E., Mazzelli, M., Luongo, D., Naviglio, D., Coppola, L., Salvatore, M., & Frisoni, G. B. (2020). Short-chain fatty acids and lipopolysaccharide as mediators between gut dysbiosis and amyloid pathology in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, (Preprint), 1-15.
- Martin, C., & Niemeyer, P. (2021). On the impact of network size and average degree on the robustness of centrality measures. *Network Science*, 9(S1), S61-S82.
- Maslowski, K. M., & Mackay, C. R. (2011). Diet, gut microbiota and immune responses. *Nature immunology*, 12(1), 5-9.
- Matamoros, S., Gras-Leguen, C., Le Vacon, F., Potel, G., & de La Cochetiere, M. F. (2013). Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends in microbiology*, 21(4), 167-173.
- Nikolova, V. L., Smith, M. R., Hall, L. J., Cleare, A. J., Stone, J. M., & Young, A. H. (2021). Perturbations in Gut Microbiota Composition in Psychiatric Disorders: A REVIEW and Meta- analysis. *JAMA psychiatry*.
- Notting, F., Pirovano, W., Sybesma, W., & Kort, R. (2023). The butyrate-producing and spore-forming bacterial genus Coprococcus as a potential biomarker for neurological disorders. *Gut Microbiome*, 4, e16.
- Obregon-Tito, A. J., Tito, R. Y., Metcalf, J., Sankaranarayanan, K., Clemente, J. C., Ursell, L. K., Xu, Z. Z., Treuren, W., Knight, R., Gaffney, P., Spicer, P., Lawson, P., Marin-Reyes, L., Trujillo- Villarroel, O., Foster, M., Guija-Poma, E., Troncoso-Corzo, L., Warinner, C., Ozga, A., & Lewis, C. M. (2015). Subsistence strategies in traditional societies distinguish gut microbiomes. *Nature communications*, 6(1), 1-9.
- Olm, M. R., Dahan, D., Carter, M. M., Merrill, B. D., Yu, F. B., Jain, S., Meng, X., Tripathi, S., Wastyk, H., Neff, N., Holmes, S., Sonnenburg, E., Jha, A., & Sonnenburg, J. L. (2022). Robust variation in infant

- gut microbiome assembly across a spectrum of lifestyles. *Science*, 376(6598), 1220-1223.
- Ou, J., Carbonero, F., Zoetendal, E. G., DeLany, J. P., Wang, M., Newton, K., Gaskins, H., & O'Keefe, S. J. (2013). Diet, microbiota, and microbial metabolites in colon cancer risk in rural Africans and African Americans. *The American journal of clinical nutrition*, 98(1), 111-120.
- Ouabbou, S., He, Y., Butler, K., & Tsuang, M. (2020). Inflammation in mental disorders: is the microbiota the missing link?. *Neuroscience bulletin*, 36, 1071-1084.
- Partida-Rodríguez, O., Serrano-Vázquez, A., Nieves-Ramírez, M. E., Moran, P., Rojas, L., Portillo, T., González, E., Hernández, E., Finlay, B., & Ximenez, C. (2017). Human intestinal microbiota: interaction between parasites and the host immune response. *Archives of medical research*, 48(8), 690-700.
- Patten, K. T., Valenzuela, A. E., Wallis, C., Berg, E. L., Silverman, J. L., Bein, K. J., Wexler, A., & Lein, P. J. (2021). The Effects of Chronic Exposure to Ambient Traffic-Related Air Pollution on Alzheimer's Disease Phenotypes in Wildtype and Genetically Predisposed Male and Female Rats. *Environmental health perspectives*, 129(5), 057005.
- Pavlopoulos, G. A., Secrier, M., Moschopoulos, C. N., Soldatos, T. G., Kossida, S., Aerts, J., Schneider, R., & Bagos, P. G. (2011). Using graph theory to analyze biological networks. *BioData mining*, 4, 1-27
- Polster, S. P., Sharma, A., Tanes, C., Tang, A. T., Mericko, P., Cao, Y., Carrión-Penagos, J., Girard, R., Koskimäki, J., Zhang, D., Stadnik, A., Romanos, S., Lyne, S., Shenkar, R., Yan, K., Lee, C., Akers, A., Morrison, L., Robinson, M., ... & Awad, I. A. (2020). Permissive microbiome characterizes human subjects with a neurovascular disease cavernous angioma. *Nature communications*, 11(1), 1-11.
- Prokopakis, E., Vardouniotis, A., Kawauchi, H., Scadding, G., Georgalas, C., Hellings, P., Velegrakis, G., & Kalogjera, L. (2013). The pathophysiology of the hygiene hypothesis. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*, 77(7), 1065-1071.
- Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. S., Manichanh, C., Nielsen, T., Pons, N., Levenez, F.,



- Yamada, T., Li, J., Xu, J., Li, S., Li, D., Cao, J., Wang, B., Liang, H., Zheng, H., Xie, Y., & Mende, D. R. (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature*, 464(7285), 59-65. <https://doi.org/10.1038/nature08821>
- Radjabzadeh, D., Boer, C. G., Beth, S. A., van der Wal, P., Kiefte-De Jong, J. C., Jansen, M. A., Konstantinov, S. R., Peppelenbosch, M. P., Hays, J. P., Jaddoe, V. W. V., Ikram, M. A., Rivadeneira, F., van Meurs, J. B. J., Uitterlinden, A. G., Medina-Gomez, C., Moll, H. A., & Kraaij, R. (2020). Diversity, compositional and functional differences between gut microbiota of children and adults. *Scientific reports*, 10(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57734-z>
- Ramírez-Carrillo, E., Gaona, O., Nieto, J., Sánchez-Quinto, A., Cerqueda-García, D., Falcón, L. I., Rojas-Ramos, O. A., & González-Santoyo, I. (2020). Disturbance in human gut microbiota networks by parasites and its implications in the incidence of depression. *Scientific Reports*, 10(1), 3680. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60562-w>
- Reuben, A., Arseneault, L., Beddows, A., Beevers, S. D., Moffitt, T. E., Ambler, A., Latham, R., Newbury, J., Odgers, C., Schaefer, J., & Fisher, H. L. (2021). Association of Air Pollution Exposure in Childhood and Adolescence With Psychopathology at the Transition to Adulthood. *JAMA network open*, 4(4), e217508-e217508.
- Rivet-Noor, C., & Gaultier, A. (2020). The Role of Gut Mucins in the Etiology of Depression. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.592388>
- Rodrigues, F.A. (2019). Network Centrality: An Introduction. In: Macau, E. (eds) A Mathematical Modeling Approach from Nonlinear Dynamics to Complex Systems . Nonlinear Systems and Complexity, vol 22. *Springer*, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-78512-7\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-319-78512-7_10)
- Rodríguez, J. M., Murphy, K., Stanton, C., Ross, R. P., Kober, O. I., Juge, N., Avershina, E., Rudi, K., Narbad, A., Jenmalm, M., Marchesi, J., & Collado, M. C. (2015). The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial ecology in health and disease*, 26(1),

26050.

Rojo, D., Méndez-García, C., Raczkowska, B. A., Bargiela, R., Moya, A., Ferrer, M., & Barbas, C. (2017).

Exploring the human microbiome from multiple perspectives: factors altering its composition and function. *FEMS microbiology rEViews*, 41(4), 453-478.

Rüb, A. M., Tsakmaklis, A., Gräfe, S. K., Simon, M. C., Vehreschild, M. J., & Wuethrich, I. (2021).

Biomarkers of human gut microbiota diversity and dysbiosis. *Biomarkers in Medicine*, 15(2), 139-150.

Sánchez-Quinto, A., Cerqueda-García, D., Falcón, L. I., Gaona, O., Martínez-Correa, S., Nieto, J., &

G-Santoyo, I. (2020). Gut Microbiome in Children from Indigenous and Urban Communities in México: Different Subsistence Models, Different Microbiomes. *Microorganisms*, 8(10), 1592.

Sanmarco, L. M., Wheeler, M. A., Gutiérrez-Vázquez, C., Polonio, C. M., Linnerbauer, M., Pinho- Ribeiro, F.

A., Li, Z., Giovannoni, F., Batterman, K., Scalisi, G., Zandee, S., Heck, E., Alsuwailm, M., Rosene, D., Becher, B., Chiu, I., Pratt, A., & Quintana, F. J. (2021). Gut- licensed IFN $\gamma$ + NK cells drive LAMP1+ TRAIL+ anti-inflammatory astrocytes. *Nature*, 590(7846), 473-479.

Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). REVISED estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS biology*, 14(8), e1002533.

Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., Amin, N., Schwikowski, B., &

Ideker, T. (2003). Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome research*, 13(11), 2498- 2504.

Slingerland, A. y Stein-Thoeringer, C. (2018). Microbiome and Diseases: Neurological Disorders. En D.

Haller (Ed.), *The Gut Microbiome in Health and Disease*. Springer.

Slykerman, R. F., Thompson, J., Waldie, K. E., Murphy, R., Wall, C., & Mitchell, E. A. (2017). Antibiotics in

the first year of life and subsequent neurocognitive outcomes. *Acta Paediatrica*, 106(1), 87-94.

- Sommer, F., Anderson, J. M., Bharti, R., Raes, J., & Rosenstiel, P. (2017). The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease. *Nature REVIEWS Microbiology*, 15(10), 630-638.
- Sonnenburg, J. L., & Sonnenburg, E. D. (2019). Vulnerability of the industrialized microbiota. *Science*, 366(6464).
- Statovci, D., Aguilera, M., MacSharry, J., & Melgar, S. (2017). The Impact of Western Diet and Nutrients on the Microbiota and Immune Response at Mucosal Interfaces. *Frontiers in Immunology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00838>
- Stiemsma, L. T., Reynolds, L. A., Turvey, S. E., & Finlay, B. B. (2015). The hygiene hypothesis: current perspectives and future therapies. *ImmunoTargets and therapy*, 4, 143.
- Stražar, M., Temba, G. S., Vlamakis, H., Kullaya, V. I., Lyamuya, F., Mmbaga, B. T., Joosten, L., van der Ven, A., Netea, M., de Mast, Q., & Xavier, R. J. (2021). Gut microbiome-mediated metabolism effects on immunity in rural and urban African populations. *Nature communications*, 12(1), 1-15.
- Team, R. (2019). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA. 2015. URL: <https://www.rstudio.com/products/rstudio>.
- van Best, N., Hornef, M. W., Savelkoul, P. H., & Penders, J. (2015). On the origin of species: factors shaping the establishment of infant's gut microbiota. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*, 105(4), 240-251.
- Volkova, A., Ruggles, K., Schulfer, A., Gao, Z., Ginsberg, S. D., & Blaser, M. J. (2021). Effects of early-life penicillin exposure on the gut microbiome and frontal cortex and amygdala gene expression. *Isience*, 24(7), 102797.
- Wei, G. Z., Martin, K. A., Xing, P. Y., Agrawal, R., Whiley, L., Wood, T. K., Hejndorf, S., Ng, Y., Low, J., Rossant, J., Nechanitzky, R., Holmes, E., Nicholson, J., Tan, E., Matthews, P., & Pettersson, S. (2021). Tryptophan-metabolizing gut microbes regulate adult neurogenesis via the aryl

- hydrocarbon receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(27).
- Valles-Colomer, M., Falony, G., Darzi, Y., Tigchelaar, E. F., Wang, J., Tito, R. Y., Schiweck, C., Kurilshikov, A., Joossens, M., Wijmenga, C., Claes, S., Van Oudenhove, L., Zhernakova, A., Vieira-Silva, S., & Raes, J. (2019). The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. *Nature microbiology*, 4(4), 623-632.
- Watts, D. J. (2002). A simple model of global cascades on random networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(9), 5766-5771.
- Yang, Q., Lin, S. L., Kwok, M. K., Leung, G. M., & Schooling, C. M. (2018). The roles of 27 genera of human gut microbiota in ischemic heart disease, type 2 diabetes mellitus, and their risk factors: a Mendelian randomization study. *American journal of epidemiology*, 187(9), 1916-1922.
- Zegarra-Ruiz, D. F., Kim, D. V., Norwood, K., Kim, M., Wu, W. J. H., Saldana-Morales, F. B., Hill, A., Majumdar, S., Orozco, S., Bell, R., Round, J., Longman, R., Egawa, T., Bettini, M., & Diehl, G. E. (2021). Thymic development of gut-microbiota-specific T cells. *Nature*, 594(7863), 413- 417.
- Zheng, P., Zeng, B., Zhou, C., Liu, M., Fang, Z., Xu, X., Zeng, L., Chen, J., Fan, S., Du, X., Zhang, X., Yang, D., Yang, Y., Meng, H., Li, W., Melgiri, N. D., Licinio, J., Wei, H., & Xie, P. (2016). Gut microbiome remodeling induces depressive-like behaviors through a pathway mediated by the host's metabolism. *Molecular Psychiatry*, 21(6), 786-796. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.44>
- Zheng, D., Liwinski, T., & Elinav, E. (2020). Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell research*, 30(6), 492-506.