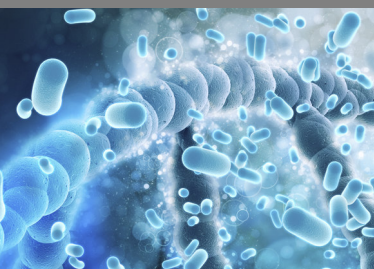




Fibra dietaria, microbiota intestinal y butirato



Compiladoras

Micaela Medrano | María Fernanda Hamet



OBRAS
COLECTIVAS
SOBRE RESULTADOS/
AVANCES DE
INVESTIGACIÓN

Fibra dietaria, microbiota intestinal y butirato

Fibra dietaria, microbiota intestinal y butirato

Compiladoras

Micaela Medrano | María Fernanda Hamet

Autoras y autores

Analía Graciela Abraham

María Virginia Gangoiti

María Fernanda Hamet

Micaela Medrano

Natalia Moreira

Evelyn Perrone Edelstein

Judith Araceli Piermaria

Martin Reyemar

Nicolas Simonelli



Fibra dietaria, microbiota intestinal y butirato / Micaela Medrano ... [et al.] ;
Compilación de Micaela Medrano ; María Fernanda Hamet. - 1a ed. - Florencio
Varela : Universidad Nacional Arturo Jauretche, 2025.
Libro digital, PDF - (Obras colectivas sobre resultados / avances de investigación ; 20)

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-631-91277-4-4

1. Alimentos Saludables. 2. Salud. 3. Microbiología Aplicada. I. Medrano, Micaela II.
Medrano, Micaela, comp. III. Hamet, María Fernanda, comp.
CDD 353.56

Secretaría de
Investigación y
Vinculación Tecnológica

Dirección de
Gestión de la
Investigación

Universidad Nacional
ARTURO JAURETCHÉ

Rector: Dr. Arnaldo Medina

Vicerrector: Ing. Miguel Binstock

Secretaría de Investigación y Vinculación Tecnológica: Dr. Patricio Narodowski

Dirección de Gestión de la Investigación: Mg. Dolores Chiappe

1ª edición, agosto de 2025

© 2025, UNAJ

Av. Calchaquí 6200 (CP1888)

Florencio Varela Buenos Aires, Argentina

Tel: +54 11 4275-6100

editorial@unaj.edu.ar

www.editorial.unaj.edu.ar

Este libro fue seleccionado, con referato externo, en la Convocatoria de Obras
Colectivas 2023, realizada por la UNAJ.

Queda hecho el depósito que marca la Ley 11.723



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Argentina.
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 2.5 Argentina (CC BY-NC-ND 2.5 AR)
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.5/ar/>

Prefacio	11
Contenido	15
Introducción	19
Capítulo 1. Relevamiento territorial de donantes para inclusión en estudio sobre microbiota intestinal	
Evelyn Perrone Edelstein, Natalia Moreira, Maria Fernanda Hamet, Micaela Medrano.....	37
Capítulo 2. Modelos de estudio de fermentación de fibra y prebióticos <i>in vitro</i>	
Nicolas Simonelli, Micaela Medrano, Analía Abraham	49
Capítulo 3. La microbiota individual responde de manera diferente frente a la fermentación de una misma fibra	
María Virginia Gangoiti, Nicolas Simonelli, Micaela Medrano, Analía Abraham	63
Capítulo 4. Comparación del efecto que tienen distintos polisacáridos en la microbiota de los individuos	
Natalia Moreira, Martin Reymar, Nicolas Simonelli, Judith Piermaria, Micaela Medrano	85
Capítulo 5. Prebióticos: efectos dependientes de la microbiota individual	
Micaela Medrano, María Fernanda Hamet	113
Conclusiones Generales	123

Bibliografía.....127

Autores165

A la Universidad Pública.

A nuestras familias.

A la buena predisposición de todas las personas que han donado muestras.

Prefacio

La Universidad Nacional Arturo Jauretche UNAJ es una Universidad joven cuyos docentes y docentes-investigadores -en su inmensa mayoría- provienen de otras casas de estudio, fundamentalmente de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Universidad de Buenos Aires (UBA) y Universidad Nacional de Quilmes (UNQUI), hasta tanto sean los propios egresados de la UNAJ quienes conformen los planteles docentes. La dedicación y la vocación de todas estas personas son que permiten que una Universidad en crecimiento -como es la UNAJ- dé sus primeros pasos en *investigación, vinculación y transferencia*. En esta compilación en particular, se incluyen resultados logrados luego del cumplimiento de objetivos propuestos en proyectos de investigación radicados en el Instituto Ciencias de la Salud de la UNAJ, así como también dependientes de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP y de Unidades ejecutoras CONICET y CIC. Algunos de los proyectos radicados en la UNAJ son continuación de líneas de investigación iniciadas en la UNLP.

Esta obra es entonces el resultado de la participación y el establecimiento de las docentes-investigadoras Dra. Judith Piermaria, Dra. Ma. Virginia Gangoiti, Dra. Ma. Fernanda Hamet y Dra. Micaela Medrano, quienes han ramificado y dado continuidad a una línea de trabajo iniciada en el CIDCA (UNLP-CONICET-CIC) por la Dra. Analía Abraham. La Dra. Medrano

(docente-investigadora del Instituto Ciencias de la Salud, UNAJ), la Dra. Hamet (Profesora Adjunta del ICS, UNAJ) y la Dra. Piermaria (con trayectoria docente ya finalizada en el ICS, UNAJ) han sumado experiencia dirigiendo y co-dirigiendo proyectos de investigación en la UNAJ desde el año 2020. Por su parte, la Dra. Gangoiti ha formado parte de proyectos de investigación radicados en la UNAJ (PIO e UNAJ Investiga) en el grupo de Investigación del Dr. Pablo Peruzzo (Instituto de Ingeniería y Agronomía, UNAJ). El Lic. Nicolas Simonelli (docente del ICS, UNAJ) forma también parte del grupo de trabajo. Estudiantes avanzados de carreras de Salud han participado de algunas de las actividades que se relatan en esta obra. En conjunto, todos y todas han contribuido al cumplimiento de objetivos correspondientes a proyectos financiados por la ANPCyT, la UNLP, el CONICET y la UNAJ. Parte de los resultados que se exponen, han formado parte de trabajos finales de grado de la carrera de Bioquímica de la FCE, UNLP y del ICS, UNAJ, o corresponden a planes de trabajo de becas de inicio a la investigación CIN y BIEI UNAJ finalizadas y en curso.

Esta compilación plasma el esfuerzo colectivo llevado a cabo durante años de trabajo en el laboratorio desde sus inicios en el CIDCA y la UNLP, y más adelante en su proyección a la UNAJ. Por ello, se hace imprescindible agradecer a todos los que colaboraron en los estudios, y en particular vehementemente a las personas que donaron sus muestras para que el conocimiento sobre el tema sea hoy contundente. Asimismo, agradecemos a la Unidad de Vinculación y Transferencia de la UNAJ por brindar la oportunidad de mostrar los resultados de nuestras investigaciones

y a todos los que de un modo u otro hicieron posible esta publicación.

Lo que se muestra aquí es una foto instantánea de lo que sabemos hasta el momento sobre microbiota, prebióticos y salud intestinal. Deseamos compartir los resultados con los lectores e invitarlos a seguir indagando en el mundo de la microbiota intestinal, donde todavía queda tanto por descubrir.

Contenido

La propuesta pretende incluir en esta obra los resultados alcanzados por dos proyectos de investigación radicados en la UNAJ. Ambos proyectos se relacionan con el estudio de la potencialidad que tienen ciertas fibras alimentarias para estimular la microbiota intestinal saludable, la capacidad de estas fibras para ser fermentadas por bacterias intestinales benéficas con la consecuente producción de ácidos grasos de cadena corta y los efectos que tienen estos ácidos, según evidencia científica, *in situ* (en el colon) y también a nivel sistémico.

En este sentido, ambos proyectos han explorado varias fibras alimentarias, focalizándose en estudios *in vitro* con la utilización de muestras provenientes de individuos con patologías intestinales de origen inflamatorio (causadas muchas veces por desequilibrios en la microbiota intestinal), evaluando la potencialidad de estas fibras para revertir el estado de desequilibrio e incrementar la producción de un ácido orgánico en particular: el ácido butírico. Al mismo tiempo, los resultados obtenidos a lo largo del desarrollo de las actividades planteadas han pretendido aportar a la nueva tendencia en las propuestas de investigación de los últimos años, que postulan como alternativa a los tratamientos para dichas patologías, la implementación de “intervenciones dietarias personalizadas” o “nutrición de precisión”.

En la UNAJ se han radicado dos proyectos de investigación que abordan la temática desde diferentes puntos de vista. Uno de ellos (UNAJ Investiga 2020-2022) propuso la comparación del impacto provocado por fuentes de fibra de diferente origen. El segundo de ellos (PIO CONICET UNLP UNAJ 2022-2024 044) propone dar una utilidad a un subproducto de la industria cervecera investigando la fibra presente en el mismo. Ambos proyectos, se continúan en una línea de investigación actual de la UNAJ, dedicada a la investigación en prebióticos, microbiota, patologías intestinales e intervenciones dietarias personalizadas que persigue aumentar el conocimiento del tema, aumentar las capacidades institucionales y promover la formación de RRHH de esta casa de estudios.

El enfoque teórico que nuclea esta investigación colectiva está relacionado, entonces, con la temática que es abordada en dichos proyectos de investigación, y que puede sintetizarse en el efecto que ejerce la fibra dietaria en la microbiota intestinal y -a través de ella- en nuestra salud. La hipótesis de trabajo es que la fibra dietaria tiene un impacto en la composición de la microbiota intestinal, y que este efecto depende de la composición basal (inicial) de dicha microbiota. En cada capítulo se profundizará en el marco teórico que se relaciona con los resultados que se exponen, así como en el enfoque metodológico utilizado para abordar las diferentes problemáticas abordadas.

Esta obra pretende resumir los resultados obtenidos hasta el momento, publicados parcialmente en reuniones científicas, trabajos finales de grado y revistas científicas internacionales. En

la **Introducción** se proporciona al lector los conceptos necesarios para la comprensión de los temas abarcados. En el **Capítulo 1** se aborda la relevancia de conocer la población residente en el territorio y se exponen los resultados obtenidos a partir de una encuesta realizada en la zona La Plata-Florencio Varela-CABA, relativa a hábitos alimentarios y salud intestinal. En el **Capítulo 2** se comentan los diferentes modelos de estudio *in vitro* que existen para efectuar la simulación del pasaje por el tracto gastrointestinal. Asimismo, se describe cómo la implementación de estos modelos tiene la intención de reducir el uso de animales de laboratorio y propiciar la obtención de resultados más próximos a la situación real o incluso a estudiar la respuesta individual. En el **Capítulo 3** se expone el desarrollo de un ensayo en el cual se evaluó el efecto de un solo prebiótico y se compararon sus efectos en la microbiota intestinal de 10 individuos sin patologías. En el **Capítulo 4** se presentan casos en los que se utilizaron distintos prebióticos y se compararon los efectos en la microbiota intestinal de individuos con distintas patologías intestinales. En el **Capítulo 5** se recorre la evidencia científica que sustenta la importancia de las recomendaciones dietarias personalizadas, en particular en el caso de los prebióticos.

Introducción

La relación entre dieta y salud acompaña al hombre desde la antigüedad. Si bien el consumo de alimentos benéficos se remonta históricamente a tiempos antes de Cristo (como por ejemplo el consumo de plantas con propiedades medicinales y alimentos fermentados), se puede proponer como inicio de la historia que pretendemos relatar, el momento en el que se reconoció la existencia de microorganismos. Contribuyeron a ello el advenimiento de los primeros microscopios en el siglo XVII, los avances de Robert Hooke y Anton van Leeuwenhoek, posteriormente el desarrollo de la microbiología impulsada por Louis Pasteur y más adelante Ilya Metchnikoff, discípulo de Louis Pasteur y premio Nobel de Medicina en 1908, quien a principios del siglo XX creyó haber encontrado en los microorganismos del yogur (bacterias lácticas), la solución al problema del envejecimiento. De hecho, Metchnikoff se interesó en los hábitos de vida que permitían alcanzar la longevidad, y fue el creador de la gerontología, ciencia de la vejez, y la tanatología, ciencia de la muerte (Vasiljevic y Shah, 2008).

Más adelante, en la década de los 80, en Japón, con la finalización de la segunda guerra mundial y como resultado del incremento en la economía del país, mejoró la expectativa de vida. El aumento en el gasto en salud motivó al gobierno a buscar -en conjunto con la

academia y la industria de alimentos- el desarrollo de alimentos que tuviesen un efecto positivo en la salud de la población. Así nacieron los "alimentos para usos específicos de salud", identificados como FOSHU (abreviatura de *Food for Specified Health Uses*). Se trata de una nueva categorización de algunos alimentos que, comprobadamente a través de estudios clínicos y epidemiológicos, poseen un efecto positivo en la prevención de algunas enfermedades específicas. Los productos que obtienen esta categoría llevan un logo característico en sus envases que es ampliamente reconocido y valorado por el consumidor (Durán y Valenzuela, 2010).

En Europa, consecuentemente con la irrupción de estos alimentos en el mercado (durante los años 1995 a 1999), el ILSI (*International Life Sciences Institute*, o Instituto Internacional de las Ciencias de la vida) comienza a realizar sus propios estudios, cuyos resultados fueron compilados en el año 1999 en el documento de consenso: "Conceptos científicos sobre los alimentos funcionales en Europa" (ILSI, 1999).

Hoy en día, se puede decir que los avances científicos relacionados con dieta y salud han traspasado los límites de los laboratorios y de la academia, y actualmente la población en general reconoce la diferencia entre una dieta saludable y una que no lo es; y, en líneas generales se reconoce el beneficio de consumir alimentos frescos, con variedad de frutas y verduras, incluyendo fibra, y disminuir el consumo de productos ultra-procesados, ricos en grasas saturadas, azúcares y sodio. La implementación de la Ley de Promoción de la Alimentación Saludable N° 27.642 ("Ley de

Etiquetado Frontal”) ha tenido relevancia en esta concientización, si bien su aprobación se vio afectada por intereses de tipo económico (referencia web 1).

Al mismo tiempo, y también denotando que hay un interés y conocimiento adquirido por la población en cuanto a relación entre una microbiota saludable, el consumo de fibra y la prevención de enfermedades, es que se comenzaron a incorporar nuevos términos al vocabulario cotidiano. En este sentido, términos como “microbiota”, “probióticos” y “prebióticos” empiezan a ser cada vez más utilizados por la población general. Un ejemplo de ello es el impacto y número de visualizaciones que ha tenido el documental “Descifra tu salud: los secretos del intestino”, que incluye información sobre dieta, fibra, diversidad y secuenciación de poblaciones microbianas y ha sido recientemente estrenado en una plataforma de *streaming* (referencia web 2). Otra prueba de que el conocimiento trasciende el laboratorio es que se reconoce -cada vez más- que la prevención de patologías intestinales se asocia a la ingesta de fibras que favorecen una microbiota intestinal diversa y saludable, capaz de fermentarla y producir metabolitos con efecto benéfico para la salud.

Estas obras colectivas surgen de la necesidad de plasmar un recorrido de investigación originado en el centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CIDCA, dependiente del CONICET, CIC y UNLP) y que ha permitido dar origen a un núcleo de investigación que se desarrolla actualmente en la UNAJ. Por otro lado, y en línea con los párrafos anteriores,

existe también la necesidad de comunicar, no solo a la comunidad científica, sino también a los estudiantes y a todo aquel interesado, cuestiones que tienen que ver con la relación entre la microbiota y la salud. En este texto pretendemos acercar información que trascienda el ámbito de las ciencias biológicas y pueda ser comprendida y aprehendida por otras disciplinas académicas. También, el conocimiento puede traspasar los límites de la universidad y llegar a la comunidad y de este modo aclarar y desambiguar términos, contribuyendo a la construcción del conocimiento en el ámbito no-académico. En esta introducción se presentarán algunas definiciones y en los capítulos que siguen describiremos nuestra experiencia relacionada con fibra y salud intestinal.

Alimentos funcionales

Luego del puntapié inicial dado en Japón con los FOSHU, a fines de la década de los 90, sumado a los numerosos estudios de evaluación de la literatura existente, el ILSI Europa definió a los alimentos funcionales de la siguiente manera: “un alimento puede considerarse funcional si se demuestra satisfactoriamente que ejerce un efecto beneficioso sobre una o más funciones selectivas del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de modo tal que resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas”.

Un alimento funcional -en consecuencia- puede ser un alimento natural o procesado que cumpla con los siguientes requisitos:

- Un alimento natural en el que uno de sus componentes ha sido mejorado mediante condiciones especiales de cultivo.
- Un alimento al que se le ha añadido un componente para que produzca beneficios como prebióticos y probióticos.
- Un alimento que debe producir efectos beneficiosos sobre las acciones orgánicas, además de sus efectos nutricionales intrínsecos apropiados para mejorar la salud y el bienestar, reducir el riesgo de enfermedad (no prevenir) o ambas a la vez.
- Un alimento del cual se ha eliminado un componente para que produzca menos efectos adversos sobre la salud.
- Un alimento en el que la naturaleza de uno o más de sus componentes ha sido modificada químicamente para mejorar la salud; por ejemplo, hidrolizados proteicos adicionados en los preparados para lactantes para reducir el riesgo de alergenicidad.
- Un alimento en que la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes ha sido aumentada para mejorar la asimilación de un componente beneficioso.
- Cualquier combinación de las posibilidades anteriores.

En Estados Unidos no hay legislación que contemple la categoría de alimentos funcionales. Solo se permite, desde 1993, que se aleguen propiedades "que reducen el riesgo de padecer enfermedades" en ciertos alimentos. Las "alegaciones de salud" están autorizadas por la agencia del gobierno responsable de la regulación de alimentos y medicamentos (FDA, *Food and Drug*

Administration), en cuanto esté comprobado científicamente y mediante evidencia públicamente disponible, y exista consenso científico que respalde dichas alegaciones. Según la FDA, las alegaciones pueden basarse también en "declaraciones autorizadas" de Organismos Científicos Federales, como los Institutos Nacionales de la Salud (*National Institutes of Health*) y los Centros para la Prevención y el Control de Enfermedades (*Centres for Disease Control and Prevention*), así como de la Academia Nacional de las Ciencias (*National Academy of Sciences*).

En la legislación de la Unión Europea no existen disposiciones legislativas directas sobre los alimentos funcionales. En diciembre de 2006, la UE aprobó el Reglamento (CE) N°1.924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, relativo a las *declaraciones nutricionales* y de *propiedades saludables* en los alimentos, que establece las definiciones, criterios específicos y condiciones de uso de estas declaraciones. Luego, a través de Reglamentos específicos, se publican los listados de declaraciones de propiedades saludables denegadas y/o autorizadas, especificando el nutriente, sustancia, alimento o categoría de alimento, el tipo de declaración, las condiciones y/o restricciones de uso del alimento, o bien una declaración o advertencia complementaria.

Argentina, a la fecha no cuenta con una definición consensuada sobre alimentos funcionales. Sin embargo, el Código Alimentario Argentino (CAA), en los artículos 1.389 y 1.390 define a los alimentos probióticos y prebióticos respectivamente.

Los probióticos son los componentes de alimentos funcionales más conocidos; se trata de microorganismos vivos que

administrados en dosis adecuadas confieren beneficios en la salud del consumidor (Código Alimentario Argentino, Cap. XVII Art 1.389). Los prebióticos son compuestos (mayoritariamente oligo y polisacáridos) no digeribles, capaces de estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de bacterias intestinales que favorecen la salud (Gibson y Roberfroid, 1995; Gibson et al., 2017). La evidencia científica que relaciona su consumo con el favorecimiento de poblaciones bacterianas benéficas, la producción de metabolitos bioactivos y la disminución de la incidencia de patologías intestinales -entre otros beneficios- crece exponencialmente (Sanders, Merenstein, Reid, Gibson y Rastall, 2019; Yadav, Kumari, Singh, Sharma y Tiwari, 2022). Los prebióticos en nuestro país se encuentran regulados por el Código Alimentario Argentino (Capítulo XVII, Art 1.390 - Res. Conj. SPReI 229/2011 y SAGyP 731/2011). Los carbohidratos que pueden considerarse candidatos a prebióticos son aquellos que no pueden ser digeridos por nuestras enzimas pero que pueden ser fermentados por bacterias intestinales benéficas y, a través de la producción de metabolitos por parte de éstas, ejercer un efecto benéfico en la salud del consumidor (Menezes et al., 2011; Holscher, 2017; Gonçalves, González, Roupas, Teixeira y Nobre, 2023).

Otros alimentos funcionales relativamente nuevos son los sinbióticos, que resultan de la combinación de probióticos y prebióticos (Gibson et al., 2017; Yadav et al., 2022). El término “*synbiotic*” resulta de la combinación del prefijo griego “*syn*”, que significa “juntos”, y la base de derivación “*biótico*”, que significa “perteneciente a la vida”. La traducción de este término al

castellano es “sinbiótico”, pero debe diferenciarse del término similar “simbiótico”, ya que los conceptos son diferentes. “Simbiótico”, tal y como se utiliza en biología, se refiere a una relación ecológica en la que un organismo (el huésped simbiote) vive en una relación a largo plazo en un ecosistema con otro organismo (el hospedador), es decir, viven en simbiosis. Cuando nos referimos a “sinbióticos”, no hacemos referencia a dos organismos, sino a un microorganismo combinado con un ingrediente alimentario, por ejemplo, una molécula como la inulina (Vázquez-Frías et al., 2022).

Los sinbióticos se pueden formular utilizando dos enfoques. Un sinbiótico complementario comprende un probiótico más un prebiótico (o más de uno de cada uno), que trabajan de forma independiente para lograr uno o más beneficios para la salud. Los componentes probióticos y prebióticos del sinbiótico complementario deben cumplir cada uno con sus requisitos mínimos, según las normativas legales del país donde se comercializan (en nuestro caso, artículos 1389 y 1390 del CAA). Por otro lado, un sinbiótico sinérgico está compuesto por un microorganismo vivo y un sustrato que debe ser utilizado selectivamente por el microorganismo coadministrado. En este caso, no es requisito que probiótico y prebiótico cumplan con sus requisitos mínimos, ya que en este caso el sinbiótico está diseñado para actuar de manera sinérgica. Muchos trabajos sostienen que el efecto que tienen los sinbióticos sinérgicos es diferente y en muchos casos superior a la que tienen los probióticos y prebióticos de manera individual (Tierney et al., 2023).

Esta clasificación de los sinbióticos fue recientemente discutida y aprobada por la ISAPP (*International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics*) en un trabajo consensuado (Swanson et al., 2020). Algunos alimentos y suplementos con cualidades de sinbióticos han sido introducidos en la industria a nivel mundial desde hace una década aproximadamente, y los ejemplos incluyen productos lácteos (queso, yogur, leche, helado), bebidas fermentadas, chocolate, suplementos nutricionales, jugos, etc. (Chauhan y Sharma, 2023). Cabe destacar que los sinbióticos no están regulados por el CAA al mes de Febrero del año 2025.

Microbiota intestinal

El término “microbiota intestinal” se refiere al conjunto de microorganismos que colonizan mayormente el intestino grueso de un individuo, en una relación que -en principio- es recíprocamente benéfica (mutualismo) ya que la microbiota en el colon se alimenta de los alimentos no digeridos por el individuo, y a cambio, proporciona al hospedador sustancias útiles para su funcionamiento y desarrollo, tales como la vitamina B₁₂, importante en la reproducción y crecimiento de los glóbulos rojos y en la función de los nervios del sistema nervioso periférico, y vitamina K, esencial para efectuar la cascada de la coagulación sanguínea y evitar hemorragias. Otros de los beneficios que le otorgan a la salud del hospedador una microbiota saludable, se pueden mencionar: el mantenimiento de la homeostasis intestinal, la protección frente a la colonización por patógenos, la modulación del sistema inmune, la regulación del sistema cardiovascular, la reducción de la incidencia de alergias y procesos inflamatorios, etc., dados tanto por los microorganismos como

por sus metabolitos, fundamentalmente ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Cunningham et al., 2021).

La microbiota de cada individuo se establece desde etapas muy tempranas y se va modificando a lo largo de la vida, y en particular en los mamíferos está determinada por los diferentes eventos en el desarrollo, como lo son: la etapa intrauterina, el modo de nacimiento y el tipo de lactancia (Ottman, Smidt, de Vos y Belzer, 2012; Collado, Rautava, Aakko, Isolauri y Salminen, 2016), así como por los tratamientos con antibióticos (Zimmermann y Curtis, 2019). Luego, la microbiota se va complejizando con la incorporación de alimentos sólidos en la dieta, y ya en el humano adulto está fuertemente influenciada por los hábitos de vida y por el tipo de alimentación (Zmora, Suez y Elinav, 2019). De este modo, la microbiota intestinal compone un ecosistema único que no se repite entre individuos de la misma especie (Iebba et al., 2016); si bien se pueden reconocer “enterotipos” de acuerdo con las poblaciones bacterianas dominantes (Arumugam et al., 2011), este agrupamiento, en un principio novedoso, hoy en día se está dejando de utilizar (Knights et al., 2014; Bartsch, Hahn y Berkemeyer, 2023).

Más allá de las diferencias entre individuos, se reconocen poblaciones de microorganismos asociadas con la buena salud y viceversa (se mencionan en los siguientes párrafos). Esta relación que tenemos con las bacterias se puede explicar y comprender desde la ecología. La comunidad microbiana que albergamos en nuestro cuerpo constituye un ecosistema del cual somos soporte; se le llama “holobionte”, y describe una situación en la que hay un

huésped y un hospedador que viven en armonía, en una relación que en principio es benéfica (mutualismo).

Ya que la microbiota intestinal es una población dinámica en la que las bacterias (huéspedes) se alimentan, se reproducen y mueren (o abandonan nuestro cuerpo en las heces), podemos entender que no es algo estático que se mantiene en el tiempo (Kolodziejczyk, Zheng y Elinav, 2019). Al mismo tiempo, el hospedador, que a su vez es soporte de este ecosistema, también sufre cambios relacionados con diferentes eventos: hábitos de vida, alimentación, consumo de antibióticos, estacionalidad, hormonas, estrés, por nombrar solo algunos que pueden afectar a la microbiota, en esta relación tan estrecha. Para complejizar aún más esto, en los últimos años se ha evidenciado que existe una conexión entre la microbiota intestinal y el sistema nervioso central (lo que se conoce como eje intestino-cerebro), cuya conexión es el nervio vago que, al inervar varios órganos involucrados en dichos sistemas y ejercer su rol inmunomodulador, es clave en la interconexión de todos estos elementos (Mörkl, Butler y Wagner-Skacel, 2023).

Por lo tanto, como este ecosistema no es estático, se habla de “estados”, y en este sentido, se acuñaron los términos “eubiosis”, “disbiosis”, “anfibiiosis”, “patobiontes”, entre otros. Como se mencionó, la relación entre estos microorganismos y el hospedador es, en principio, benéfica. Sin embargo, la relación entre hospedador y huésped depende del contexto en el cual se da, y en este sentido, el ecologista microbiano Theodor Rosebury en los 60 acuñó el término “anfibiiosisbiosis” para definirla (del

griego *amphy*=ambos) (Iebba et al., 2016). De acuerdo con esto, más que hablar de microorganismos “benéficos” y “patógenos” se tiende a hablar de microorganismos “protectores” y “patobiontes”, haciendo referencia al rol que puede tener una misma especie en un momento dado en el contexto intestinal (Lynch y Pedersen, 2016; Ghosh, Shanahan y O’Toole, 2022).

El estado de equilibrio del ecosistema microbiano intestinal con el hospedador se denomina eubiosis, mientras que se denomina disbiosis al estado alterado de este equilibrio. Una microbiota intestinal en estado de eubiosis se caracteriza por una preponderancia de especies protectoras, pertenecientes principalmente a los *Phyla Firmicutes* y *Bacteroidetes*, mientras que especies patobiontes (como las pertenecientes al *Phylum Proteobacteria*, particularmente la familia *Enterobacteriaceae*) están presentes, pero en un porcentaje muy bajo. Dentro de los factores que desencadenan el estado de disbiosis se pueden mencionar los factores ambientales que incluyen el tipo de dieta, el consumo de antibióticos, la exposición a enteropatógenos y sus toxinas, entre otros (Carding, Verbeke, Vipond, Corfe y Owen, 2015). Recientemente, se ha comenzado a prestar atención a componentes epigenéticos que podrían estar involucrados en el estado de disbiosis (Srivastava, Singh, Sandeep y Yadav, 2021).

El estado de disbiosis ha sido correlacionado con gran cantidad de afecciones y patologías intestinales (colon irritable, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, cáncer de colon, entre otras) (Gao, Guo, Gao, Zhu y Qin, 2015; Wu et al., 2018), y no intestinales (enfermedades autoinmunes, enfermedad de Alzheimer, autismo,

enfermedad cardiovascular, alergias, síndrome metabólico, diabetes y obesidad), a través del eje intestino-cerebro gracias a su conexión vía nervio vago (Mayer, Tillisch y Gupta, 2015; Srivastava et al., 2021). Estas patologías son usualmente complejas y multifactoriales, y muchas veces están relacionadas con las consecuencias del uso prolongado de antibióticos, que desestabilizan el equilibrio del ecosistema intestinal (Iebba et al., 2016). Dentro de los factores que pueden alterar la composición de la microbiota y conducir a estados de disbiosis se puede mencionar el consumo prolongado de fármacos antimicrobianos, ya que la mayoría puede eliminar bacterias que forman parte de la microbiota, y facilitar, por ejemplo, la reproducción e infección por bacterias como *Clostridium difficile* (Trejo, De Antoni y Pérez, 2013; Ansari et al., 2024).

La microbiota de cada individuo es única, su composición está determinada por causas multifactoriales y determina aspectos relacionados con la salud a lo largo de la vida, e incluso más allá de ella. Recientemente, se ha comenzado a estudiar la huella microbiana individual *post-mortem*, la cual puede dar información relevante forense, y está determinada por la edad del individuo al momento del deceso, localización en el planeta, causa de muerte y tiempo transcurrido, entre otros factores (Martino et al., 2022).

Hoy en día se sabe que la microbiota se puede modular a través de la alimentación. En los capítulos que siguen se tratarán distintos aspectos relacionados con el estudio de la microbiota intestinal cuando se estudia *in vitro* la respuesta de ésta frente a la presencia de distintas fuentes de polisacáridos prebióticos. Estos temas son

abordados en el grupo de investigación, adhiriendo a la tendencia que sostiene que el efecto de un alimento funcional como los prebióticos no puede generalizarse, ya que, según lo expuesto, la composición de la microbiota depende de múltiples factores. Desarrollar alimentos para cuerpos que se suponen iguales, dejando de lado disparidades sociales, habilita a los desarrolladores para extender los resultados a una población a la cual no está dirigida este alimento (Aguirre, 2019). En este sentido, Aguirre además refiere a un estudio realizado en Bélgica por Schroeder (2007), quien señaló que los alimentos funcionales frecuentemente eran consumidos prioritariamente por mujeres del mayor nivel educativo de entre 30 y 50 años pese a que quienes más los requerían eran niños y ancianos de los sectores de menores ingresos, que no podían comprarlos.

La alimentación como una problemática de salud compleja

Lo expuesto hasta aquí se refiere a condiciones que suponen aspectos humanos (individuales y sociales) que representan una parte de la población, aunque no toda. Podemos decir que son condiciones “ideales” en las cuales un individuo puede decidir y elegir los alimentos que incorporará a su dieta; o un individuo que cuenta con el conocimiento suficiente como para comprender la diferencia entre un alimento saludable y uno que no lo es. Sin embargo, esta condición no representa a toda la población de nuestro país ni del planeta. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en 2022, 149 millones de niños menores de 5 años tenían retraso del crecimiento (eran demasiado pequeños para su edad), 45 millones tenían emaciación (eran demasiado delgados para su estatura) y 37 millones tenían sobrepeso u obesidad (todas

formas de malnutrición) (referencia web 3). Es decir que, si bien existe una tendencia a la elección de alimentos saludables, esto únicamente puede ser alcanzado por una parte de la población, cuyo nivel socioeconómico se lo permite.

En este universo, la difusión de hábitos de consumo saludables que trascienden la situación económica (cuando eso es posible, ya que en la indigencia no hay posibilidad de elección), resulta una alternativa promisoría para impulsar hábitos saludables en una población promedio, que tiene la posibilidad de elegir entre el consumo de alimentos frescos o ultra-procesados. En este sentido, los alimentos fermentados artesanales (como, por ejemplo, kefir de leche, kefir de agua, kombucha) se presentan como alternativas económicas y de elaboración relativamente sencilla, que comienzan a incorporarse en las dietas de la población (Merino et al., 2023). El consumo de estos alimentos, si bien es milenario en países asiáticos, ha experimentado un incremento en los últimos años en nuestro país, (probablemente a causa de la pandemia por Covid-19) cuando muchas personas comenzaron a interesarse en la mejora de su sistema inmunitario, al tiempo que permanecían en sus hogares.

Por otro lado, desde el punto de vista cultural, hay una tendencia a descuidar los hábitos saludables (al menos los relacionados con la alimentación). “Existe una tendencia al abandono de las comidas caseras en la mesa hogareña, sustituida por el picoteo constante (se camina bebiendo café, se almuerza sin dejar de trabajar en la computadora, se come en la calle, en el cine, hasta en el gimnasio)” (Aguirre, 2019).

Actualmente nos encontramos frente a una crisis alimentaria que pone en jaque la satisfacción adecuada de tal necesidad. Esto se debe a que, a escala global, la producción de alimentos se basa en un modelo productivo extractivista, asociado a hábitos “modernos” de consumo, que tienen un impacto negativo en el medioambiente, la salud e inclusive en las identidades culturales de los territorios (May y Ciocchini, 2018). Comiendo sin parar, estimulados por una industria que produce y vende energía barata con la sola lógica de la ganancia, el criterio de salud debe ser introducido desde afuera, ya sea por el Estado o la Academia (Aguirre, 2019).

Uno de los abordajes con los que se trabaja en la UNAJ es reconocer a la Salud como una “problemática compleja” (Massarini y Schnek, 2015). Con “compleja” no se hace referencia a la dificultad de abordaje, sino a que requiere la intervención de múltiples disciplinas, profesiones y/o saberes para su comprensión y resolución. Las personas vivimos en sociedad, nuestras condiciones de vida y nuestra salud dependen por lo tanto de la organización de esa sociedad. De acuerdo con esto, todo lo que se relacione con la salud involucra necesariamente aspectos sociales.

Entonces, entendiendo la alimentación y la nutrición como una problemática de salud compleja, la cual no se puede abordar únicamente desde el punto de vista “biológico” (como por ejemplo el funcionamiento del cuerpo, la etiología de las enfermedades, o las cuestiones ambientales) sino que deben tenerse en cuenta disciplinas que permiten abordar otros aspectos como los

psicológicos individuales y también las dinámicas sociales. Entre estos aspectos estudiados por las ciencias sociales encontramos las condiciones de vida y trabajo, la organización de la sociedad, su estructura económica, etc. También encontramos saberes que no provienen del ámbito científico, sino que surgen a partir de las vivencias y experiencias de las comunidades (saber cómo se comunica en un barrio popular, acompañamiento de jóvenes vulnerados, organización popular, etc.). Es importante remarcar que todos estos saberes son necesarios para abordar la problemática integralmente (Massarini y Schnek, 2015).

Nuevamente: el criterio de salud debe ser resignificado, ya sea por el Estado o la Academia. Es necesario el trabajo inter-disciplinario para abordar estas temáticas que trascienden la complejidad intrínseca del propio sistema (en este caso, la microbiota intestinal) teniendo en cuenta otras variables sociales, culturales, económicas y globales.

Esperamos que se encuentre el modo de hacer llegar los desarrollos que se alcancen en la Academia al mayor número de personas posible. Esperamos que esta obra colectiva sea uno de los muchos pasos a dar en ese recorrido.

Capítulo 1

Relevamiento territorial de donantes para inclusión en estudio sobre microbiota intestinal

Evelyn Perrone Edelstein¹, Natalia Moreira¹, Maria Fernanda Hamet^{1,2}, Micaela Medrano^{1,2}

En la introducción se ha definido a la microbiota intestinal como el conjunto de microorganismos que colonizan el tubo digestivo, manteniendo una relación benéfica recíproca con el sujeto colonizado. Se tiende a incorporar el concepto de holobionte para resaltar que tanto el sujeto colonizado como su microbiota constituyen una entidad ecológica, con una relación estrecha que se establece desde la vida intrauterina (Collado et al., 2016) hasta después de la muerte (Martino et al., 2022) y que no se repite entre individuos de la misma especie (Kolodziejczyk et al., 2019).

¹ Laboratorio de Alimentos, Salud y Microbiota (LASYM), Instituto Ciencias de la Salud, UNAJ.

² Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CIDCA) (CONICET-UNLP-CIC)

Así mismo, entendiendo a la salud como la interacción dinámica entre lo biológico, lo mental y lo social, el medio en el que el individuo está inmerso cumple un rol fundamental en el proceso salud - enfermedad, así como también influye directamente en el desarrollo, la actividad y el mantenimiento de la microbiota intestinal, llegando incluso a tener implicancia en la longevidad (Nieddu et al., 2020). En este sentido, los determinantes sociales de la salud (entendidos como las condiciones en las que los individuos nacen, viven, crecen y desarrollan sus actividades de la vida diaria), son factores que pueden influir de forma negativa o positiva en el proceso salud - enfermedad, así como en la prevención y el riesgo directo de padecer patologías. El sistema digestivo es uno de los sistemas que más interacción tiene con el ambiente, por su rol en el intercambio de sustancias para la producción de energía, metabolismo y la hidratación, entre otras funciones vitales para el organismo. Dichos factores socioeconómicos condicionan directamente la alimentación de los individuos, ya que de estos depende el alcance a una fuente de agua segura, accesibilidad a alimentos nutritivos e higiene de los mismos, variedad de la dieta y posibilidad de compra de alimentos ricos en probióticos, así como, el requerimiento de tratamientos antibióticos en caso de enfermedades bacterianas dadas por el ambiente, sin dejar de lado, el fenómeno cultural creciente de la automedicación con antimicrobianos. Un ambiente de vida seguro, donde los determinantes sociales sean favorables para el individuo, donde exista promoción y prevención en salud, y medidas ambientales tangibles, mejorarán el acceso a alimentos seguros y fuentes de agua potable disminuyendo así la probabilidad de padecer una enfermedad infectocontagiosa,

impartiendo beneficios para el cuerpo y también para la microbiota.

Ciertas patologías de causas no infecciosas, tales como las enfermedades inflamatorias intestinales (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), la enfermedad celíaca, la enfermedad diverticular, los pólipos gastrointestinales y el cáncer colorrectal (CCR), entre otras, tiene influencia directa con las alteraciones y cambios en la microbiota. Por tal motivo, las variaciones de la microbiota, pueden ser un factor de riesgo para el desarrollo de las patologías mencionadas anteriormente (Gao et al., 2015; Wu et al., 2018).

Con el objetivo de indagar sobre los hábitos de vida de la población cercana a la UNAJ, se diseñó y distribuyó una encuesta autoadministrada a través de la plataforma Google Formularios, la cual fue difundida mediante redes sociales (*Facebook*, *Instagram* y grupos de *WhatsApp*) de los investigadores y de las instituciones académicas involucradas en el estudio: la Universidad Nacional de La Plata (UNLP) y la Universidad Nacional Arturo Jauretche (UNAJ). La encuesta estuvo dirigida tanto a personas del ámbito académico como no académico.

El cuestionario incluía ítems relacionados con hábitos alimentarios, presencia o ausencia de enfermedades, consumo de tabaco y alcohol, práctica de actividad física, uso de medicamentos y antecedentes personales y familiares de enfermedades. La encuesta fue respondida por un total de 163 personas. Los resultados de la encuesta se analizarán a continuación en el presente capítulo.

Por otro lado, a partir del total de encuestas respondidas, se seleccionaron aquellos participantes que manifestaron de manera afirmativa su disposición a donar muestras biológicas y que, además, informaron padecer alguna patología inflamatoria de base -como colitis ulcerosa, pólipos intestinales o cáncer de colon-, así como también se incluyeron individuos que no reportaron patologías, con el fin de contar con un grupo control. Los investigadores se contactaron con estas personas y se procedió a explicarles el objetivo del estudio y el modo de toma de muestra. Luego, los donantes entregaron la muestra y la nota de consentimiento informado firmada. Los resultados del análisis de estas muestras y su utilización en ensayos de fermentación *in vitro* serán abordados en el Capítulo 4.

Dentro de las preguntas realizadas en la encuesta, se indagó sobre el sexo y la edad de los pacientes, ya que el CCR tiene una incidencia levemente mayor en hombres y en más del 90 % de los casos se produce en mayores de 50 años, con un pico de incidencia entre los 65 y 75 años (Instituto Nacional del Cáncer, INC, 2016).

El 80 - 90 % de los casos de CCR presenta una lesión precursora, el pólipo adenomatoso o adenoma (Winawer et al., 2003; INC, 2016). Por tal motivo, el antecedente personal o familiar de esta neoplasia, incrementa estrepitosamente la posibilidad de padecer CCR. También existen patologías que aumentan de forma radical el riesgo de sufrir CCR, como las enfermedades inflamatorias intestinales (Enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), ya que estas últimas son unos de los principales factores de riesgo para el desarrollo de dicha condición (INC, 2016). Por tal motivo, dentro

de las preguntas dirigidas a los sujetos de estudio, se indagó sobre los factores de riesgo anteriormente mencionados, clasificándolos en dos grandes grupos: modificables, como la alimentación, el consumo de alcohol y el tabaquismo, y no modificables tales como la edad, el sexo, patologías de base (colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, pólipos intestinales y enfermedad celíaca) y los antecedentes heredofamiliares.

En total fueron 163 los participantes del estudio que respondieron la encuesta entre Abril de 2022 y Abril de 2023, residentes en la zona de Florencio Varela, Berazategui y Quilmes mayoritariamente, habiendo un 83 % (N: 138) de mujeres y un 17 % (N: 28) hombres. Los conjuntos etarios fueron clasificados en grupos divididos desde los 18 a 39 años (N: 85), 40 a 49 (N: 46), 50 a 60 (N: 23) y 61 años o más (N: 8), teniendo en cuenta que el riesgo de padecer CCR aumenta con la edad. Entre los 18 y los 39 años, un 80 % (N: 68) fueron mujeres, entre los 40 y 49 años, este grupo ocupó un 91% (N: 42). Un 14 % de los encuestados tienen entre 50 a 60 años, edad en la que se realiza el rastreo de CCR en personas asintomáticas por protocolo del Ministerio de Salud (Argentina, 2019), siendo un 78 % mujeres (N: 18). Solo un 5 % (N: 8) de los sujetos de estudio pertenecen al grupo etario mayor a los 60 años.

Un 19 % de los encuestados (N: 30) tiene antecedentes familiares de cáncer colorrectal, uno de los principales factores de riesgo para padecer dicha patología. De las treinta personas dentro de este grupo, un 63 % (N: 19) padece enfermedades que se evidencian como factores de riesgo para el desarrollo de dicha

neoplasia (colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, enfermedad celíaca, diverticulosis y pólipos gastrointestinales).

A partir de los resultados de la encuesta pudimos observar que del total de personas que respondieron, el 53 % reconoció no tener ninguna patología intestinal; mientras que el 47 % restante reconoció tener alguna. Dentro del 47 % que manifestó tener alguna patología intestinal, el 10 % de los encuestados respondieron que tenían “otras patologías” (sin especificar cuál), y el 12 % seleccionó más de una opción (ej: pólipos intestinales y cáncer de colon; gastritis y síndrome de intestino irritable; diverticulitis y enfermedad celíaca, etc.). Dentro del grupo restante (es decir, el 25 % con una sola patología) las patologías con mayor prevalencia podemos mencionar la enfermedad celíaca (9 %), diverticulitis (6 %), síndrome de intestino irritable (5 %), colitis ulcerosa (3 %), cáncer de colon (1 %) y pólipos intestinales (1 %) fueron las patologías con menos prevalencia dentro de los encuestados. Estos porcentajes corresponden a la cantidad de individuos que padecen alguna de estas enfermedades calculado sobre el total de individuos encuestados (N: 163) (Figura 1).

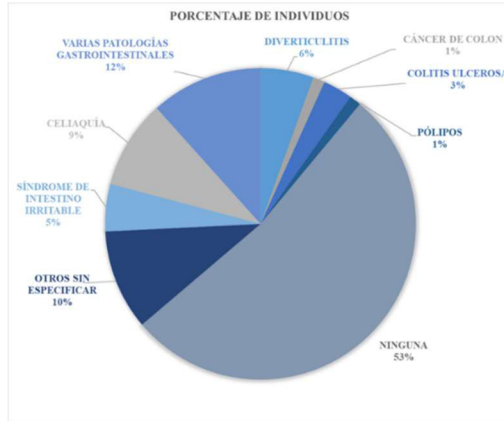


Figura 1: Porcentaje de individuos que sufren o no distintas enfermedades dentro del conjunto total de participantes de la encuesta. Elaboración propia.

Otro eje para evaluar fue el consumo de sustancias nocivas, como el tabaco, ya que gran cantidad de evidencia científica vincula su consumo con el desarrollo de casi todos los tipos de patologías oncológicas (Botteri et al., 2020), y particularmente el consumo de alcohol, que se presenta como un factor de riesgo para el desarrollo de CCR (Rossi, Anwar, Usman, Keshavarzian y Bishehsari, 2018). Del total de encuestados, un 25 % (N: 41) son tabaquistas y un 37 % (N: 60) consume alcohol.

Otro componente importante para el desarrollo del CCR es el sedentarismo, visto que, acompañado de una mala alimentación, puede generar resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo dos, ambos factores de riesgo para el desarrollo de dicha patología. Se observa plasmado en la encuesta que un porcentaje muy alto de

personas, 49 % (N: 80), es sedentaria y no realiza ningún tipo de actividad física.

El 59 % (N: 96) reconoció no consumir probióticos o desconocer si los consume; el 41 % restante consume productos fermentados (yogur mayormente N: 41, y en algunos casos, kefir de leche y de agua N: 8) y se detectó confusión entre probióticos con alimentos lácteos. Algunas personas manifestaron desconocer qué son los probióticos (N: 6).

Otros datos que se recogieron de esta encuesta son aquellos relacionados a ritmo evacuatorio y características de las heces de acuerdo con la escala de Bristol.

La realización de esta encuesta permitió entonces conocer la situación de la población regional en cuanto al padecimiento de enfermedades intestinales, indagar sobre la relación entre estas patologías y hábitos de vida, y disponer de un banco de donantes dispuestos a colaborar con muestras para realizar las fermentaciones *in vitro* en proyectos de investigación en curso. El 30 % de los individuos que respondieron la encuesta manifestaron la voluntad de donar una muestra, el 40 % respondió que “tal vez” lo haría, y el 30 % restante respondió negativamente.

De las personas que completaron la encuesta y manifestaron su voluntad de donar una muestra, se seleccionaron diez donantes, de los cuales cinco eran individuos control que no cursaban con ningún tipo de patología gastrointestinal y cinco eran individuos que cursaban con afecciones gastrointestinales (colitis ulcerosa)

y patologías preneoplásicas (pólipos intestinales). En estos individuos se relevó información sobre las patologías asociadas, el consumo de carnes, fibras e hidratos de carbono. También se recabaron datos sobre realización de actividad física y consumo de probióticos. La materia fecal se clasificó de acuerdo con la escala de Bristol. Se verificó que no hayan consumido antibióticos en los 6 meses previos al estudio. Los resultados se reflejan en la Tabla 1. Como puede observarse, y con respecto a los hábitos alimenticios, encontramos variedad en las respuestas. Con respecto al consumo de frutas y verduras, el 62,5 % de los individuos consumen frutas y verduras de 6 a 7 veces por semana; el 25 % lo hace 2 veces por semana o menos; el 12,5 % lo hace de 3 a 5 veces por semana. Con respecto al consumo de carnes, el 62,5 % de los individuos consumen carnes de 3 a 5 veces por semana; el 25 % lo hace 2 veces por semana o menos, y el 12,5 % (que representa a un solo individuo) no consume. Con respecto al consumo de fibras, el 50 % de los individuos las consumen de 6 a 7 veces por semana, el 37,5 % lo hace de 3 a 5 veces por semana y el 12,5 % (un individuo) lo hace 2 veces por semana o menos. Con respecto al consumo de hidratos de carbono, el 75 % de los individuos los consumen de 3 a 5 veces por semana y el 25 % lo hace de 6 a 7 veces por semana. Con respecto al consumo de probióticos, el 63 % consume probióticos y un 37 % no los consume. Estos resultados son relevantes ya que nos permiten conocer los hábitos dietarios de las personas incluidas en el estudio. Los resultados relativos a la respuesta de la microbiota frente al estímulo de diferentes fuentes de fibra se muestran en el capítulo 4.

INDIVIDUO	1	2	3	4a	4b	5	6	7	8	9
EDAD (años)	1	3	38	44	48	41	55	59	47	45
PATOLOGÍA	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	Pólipos intestinales	Pólipos	Pólipos intestinales	Colitis ulcerosa	Sospecha de colitis ulcerosa
Escala de Bristol	4	4	2	1	1	2	2	1	5	5
OTROS HABITOS DE CONSUMO										
FRUTAS	6-7	3-5	3-5	6-7	6-7	6-7	6-7	6-7	2	2
CARNES	3-5	3-5	3-5	4	2	NO	2	3-5	3-5	3-5
FIBRAS	6-7	3-5	3-5	3-5	6-7	6-7	6-7	3-5	2	3-5
HIDRATOS de CARBONO	6-7	6-7	3-5	3-5	3-5	3-5	3-5	3-5	6-7	3-5
HÁBITOS DE CONSUMO DE ALIMENTOS (días por semana)										
PROBIÓTICOS	SI	NO	NO	NO	SI	NO	SI	SI	NO	NO
FUMA	NO	NO	NO	SI	SI	NO	NO	SI	NO	NO
ACTIVIDAD FÍSICA	NO	NO	SI	SI	SI	SI	NO	SI	SI	NO

Tabla 3: Datos obtenidos de la encuesta realizada por los individuos (n=10) incluidos en el presente estudio. Escala de Bristol: 1: estreñimiento severo, 2:

estreñimiento moderado, 3: saludable, 4: saludable; 5: precursor a la diarrea, 6: ligera diarrea; 7: diarrea. Elaboración propia.

Conclusión

Estos resultados nos permitieron conocer la población cercana a la UNAJ en cuanto a hábitos alimenticios y su relación con patologías intestinales. Algunas de las personas que respondieron la encuesta y que manifestaron voluntad de donar, fueron incluidas en ensayos que se muestran en el capítulo 3 y que son relevantes para comprender el sistema de estudio.

Créditos

Los resultados obtenidos a partir de esta encuesta fueron presentados en III Jornadas de Investigación UNAJ, 3 y 4 de Noviembre de 2022 y también formaron parte de un trabajo final de la carrera de Bioquímica UNAJ (Bioquímica Natalia Moreira, cohorte 2024).

Para la realización de estos estudios, contamos con el aval del Comité de ética del Hospital de Alta Complejidad El Cruce Dr. Néstor C. Kirchner (D00019, Julio de 2023).

La encuesta puede seguir siendo completada por todas las personas que lo deseen se encuentra en el siguiente link: <https://forms.gle/uCaPQZUbMhd4xbqd6>

¡Agradecemos su participación!

Capítulo 2

Modelos de estudio de fermentación de fibra y prebióticos *in vitro*

Nicolas Simonelli^{1,2}, Micaela Medrano^{1,2}, Anaía Abraham^{2,3}

La microbiota intestinal humana ha sido uno de los objetos de estudio más relevantes de los últimos años debido a su estrecha vinculación con el estado de salud o enfermedad de los individuos. A su vez, cada vez es más numerosa la evidencia que sustenta la importancia del rol de la dieta en este equilibrio (Gentile y Weir, 2018). Los nutrientes de la dieta son esenciales no sólo para la salud humana, sino también para la salud y la supervivencia de los billones de microbios que residen en el intestino humano. Los microorganismos intestinales utilizan los nutrientes ingeridos para procesos biológicos fundamentales, y los resultados metabólicos de esos procesos pueden tener importantes repercusiones en la fisiología humana.

¹ Laboratorio de Alimentos, Salud y Microbiota (LASYM), Instituto Ciencias de la Salud, UNAJ.

² Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CIDCA) (CONICET-UNLP-CIC).

³ Área Bioquímica y Control de Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

La microbiota intestinal desempeña un papel en los procesos metabólicos, fisiológicos e inmunológicos del cuerpo humano, ya sea mediante el fortalecimiento de la integridad intestinal o la conformación del epitelio intestinal (Takiishi, Fenero y Cámara, 2017), la obtención de energía (den Besten et al., 2013), la protección frente a patógenos (Bäumler y Sperandio, 2016) o la regulación de la inmunidad del hospedador (Yoo, Groer, Dutra, Sarkar, y McSkimming, 2020). Es por esto por lo que resulta primordial el mantenimiento de un equilibrio en su composición que asegure la correcta ejecución de dichas funciones (Rooks y Garrett., 2016).

Se ha introducido el concepto de disbiosis para referirse a un estado de desbalance en la composición de la microbiota en términos de diversidad, que puede llevar a aumentar el riesgo de contraer enfermedades en el hospedador. Si bien se ha encontrado evidencia que fundamenta lo anterior, no es posible establecer en concreto qué se entiende por microbiota “saludable” debido a que solo una fracción de los microorganismos que residen en el tracto gastrointestinal humano se han identificado y no es posible determinar todas las interacciones existentes entre ellos (Hooks y O’Malley, 2018). Se ha intentado vincular cambios en las proporciones de ciertas familias o géneros de microorganismos a la aparición de diversas patologías como síndrome metabólico, síndrome de colon irritable o enfermedades autoinmunes, pero la evidencia es insuficiente para asociar el estado de disbiosis ya sea como causa o como consecuencia de la patología en cuestión de manera directa. Mediante la investigación en funcionalidad de los microbiomas, se podría demostrar que las diferencias en la

microbiota pueden emplearse para predecir o mejorar el tratamiento de enfermedades, y no sólo mostrar que existen diferencias (Olesen y Alm, 2016). Teniendo en consideración que la dieta es uno de los principales factores que influye en el estado de eubiosis de la microbiota intestinal y su metabolismo tiene una relación directa con la salud del hospedador, se torna fundamental encontrar metodologías que permitan evaluar el impacto de distintos sustratos en el entorno del microbioma intestinal humano. La investigación *in vivo* en el intestino humano está restringida por motivos éticos y se limita principalmente a condiciones patológicas o a ensayos farmacológicos. De aquí subyace el interés en desarrollar y perfeccionar modelos *in vitro* que emulen condiciones de fermentación del tracto gastrointestinal humano.

Una alternativa a los modelos *in vivo* en humanos son los ensayos realizados en animales, que tienen como principal ventaja una menor cantidad de restricciones éticas, así como ventajas operativas, entre las cuales se pueden destacar un mayor control de los parámetros ambientales de los ensayos, como lo son la dieta, administración de fármacos y el estrés, la posibilidad de seleccionar genéticamente a la población de animales, y la mayor facilidad para medir variables dado que se puede acceder al contenido intestinal, así como los tejidos y órganos de interés *post* autopsia, en contraposición con los modelos humanos. Sin embargo, cabe destacar que, si bien permiten un acercamiento al estudio del microbioma en un contexto de organismos vivos, la fisiología digestiva de los animales difiere en múltiples aspectos de la humana. Por citar algunos ejemplos, los roedores son

coprófagos (ingieren excremento), presentan diferencias anatómicas en el tracto gastrointestinal, como la presencia de pliegues transversales en menos regiones que los humanos y tienen una menor relación media entre la longitud del intestino delgado y el colon (Nguyen, Vieira-Silva, Liston y Raes, 2015); los cerdos, que suelen ser considerados similares a los humanos, pueden fermentar mejor las fibras alimentarias que los humanos ya que presentan una gran abundancia de bacterias celulolíticas en el intestino, pero la variedad de fibras alimentarias que son capaces de degradar es menor en comparación con la microbiota intestinal humana (Jonathan et al., 2012). A su vez, poseen un tracto digestivo superior mucho más colonizado por microorganismos y un intestino inferior proporcionalmente mucho más grande en tamaño (Macfarlane y Macfarlane, 2007). Otra desventaja que presentan los modelos animales es que en algunas circunstancias requieren de instalaciones especiales para su manipulación y suelen ser bastante más caros que los modelos *in vitro*. Los modelos de fermentación *in vitro* de microbiota intestinal humana (MIH) pueden reducir significativamente el uso de ensayos con animales, lo que es deseable a la luz de las consideraciones sociales y éticas, y los datos generados pueden utilizarse para optimizar los protocolos de investigación *in vivo*.

Si bien se han empleado diferentes configuraciones de modelos de microbiota intestinal humana *in vitro*, se pueden dividir a grandes rasgos en métodos estáticos y dinámicos. Dentro de los primeros, se han implementado una serie de modelos de fermentación por lotes, en los que el crecimiento de una suspensión bacteriana pura o mixta se realiza en un medio previamente seleccionado sin la

adición posterior de nutrientes. Es decir, no se reponen ni sustituyen componentes del medio de trabajo durante el tiempo en que dura el ensayo. Estos modelos suelen llevarse a cabo en sistemas cerrados como tubos de ensayo, botellas o, a mayor escala, reactores sellados. Las fermentaciones por lotes tienen como principal ventaja la sencillez, versatilidad y bajo costo para investigar perfiles metabólicos de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) derivados del metabolismo activo de distintos sustratos de la dieta por parte de la microbiota intestinal (Nissen, Casciano y Gianotti, 2020). Asimismo, proporcionan una primera evaluación de los tipos de metabolitos microbianos formados y ayudan a dilucidar las vías metabólicas implicadas, permitiendo analizar rápidamente un gran número de sustratos y/o muestras fecales (Macfarlane y Macfarlane, 2007). El crecimiento microbiano en estos sistemas depende de la densidad del inóculo inicial, de la tasa de agotamiento del sustrato y la acumulación de metabolitos microbianos tóxicos. Una de las principales limitantes de los modelos de fermentación en lotes está en la incapacidad de evaluar en detalle la dinámica de la comunidad microbiana y su modulación metabólica, debido a que el agotamiento del sustrato, el descenso del pH y la acumulación de metabolitos inhibidores del crecimiento microbiano restringen el tiempo operativo de las fermentaciones por lotes a sólo algunas horas e impide que se pueda establecer condiciones de estado estacionario *in vitro* (Payne, Zihler, Chassard y Lacroix, 2012; Isenring, Bircher, Geirnaert y Lacroix, 2023).

Dentro de los sistemas dinámicos tenemos los modelos de fermentación en cultivo continuo o semicontinuo, que existen

como sistemas de una o varias etapas y permiten tener más en cuenta la naturaleza dinámica de las condiciones fisicoquímicas del tracto digestivo, para lo cual son necesarios estudios con tiempos de duración más largos que los sistemas estáticos, y se facilita la reposición de sustratos y la eliminación de productos tóxicos indeseables. Al igual que en el modelo *in vitro* por lotes, en estos modelos continuos se controlan estrictamente condiciones como el pH y la temperatura (Payne et al., 2012).

Se han empleado modelos de fermentación continua en una sola fase para investigar el mecanismo de la infección por *Salmonella* en niños, así como la colonización del intestino de lactantes (Cinquin, Le Blay, Fliss y Lacroix, 2004). Sin embargo, teniendo en cuenta que la función colónica humana se desarrolla a lo largo de tres regiones diferentes, el colon ascendente, transversal y descendente, y que hay evidencia que sustenta la existencia de diferencias en la actividad metabólica y las comunidades microbianas de cada una de ellas (Macfarlane, Gibson y Cummings, 1992), actualmente se han desarrollado y se eligen para trabajar con sistemas continuos de fermentación aquellos que son multietapa (Macfarlane, Macfarlane y Gibson, 1998; Cinquin et al., 2004; Lunken et al., 2017). Se han complejizado los sistemas de fermentación continua de tres etapas mediante la inclusión de las funciones digestivas del huésped *in vitro*, en pos de simular las relaciones de diferentes funciones fisiológicas que ocurren en intestino humano, el lumen del estómago y el intestino delgado, y que son dependientes entre sí. Uno de los sistemas de digestión artificial que se pueden destacar es el TIM (TNO *intestinal model*), el cual consiste en dos componentes, el TIM-1 que reproduce el

intestino delgado y sus funciones de secreción de bilis, la motilidad, el pH y la capacidad de absorción, y el TIM-2 que simula el colon proximal con su funcionalidad peristáltica y la absorción de agua y metabolitos (Minekus et al., 1999). Este modelo se ha empleado para investigar la supervivencia de probióticos al pasaje gastrointestinal y su efecto en la microbiota intestinal humana, el efecto bifidogénico y patrones de fermentación de distintos prebióticos, estudios de administración de fármacos, así como para estudios nutricionales avanzados (Van den Abbeele, Venema, Van de Wiele, Verstraete, Possemiers, 2013; Barker, Abrahamsson y Kruusmägi, 2014; Verwei, Minekus, Zeijdner, Schilderink, y Havenaar, 2016; Venema, Verhoeven, Verbruggen, Espinosa y Courau, 2019). El modelo SHIME (simulador del ecosistema microbiano intestinal humano) es otro de los sistemas complejos de gran aplicación en estudios de microbioma intestinal humano, y consiste en cinco recipientes de fermentación colocados en serie, que funcionan de manera secuencial. Los primeros reactores simulan el proceso de ingestión y digestión que tiene lugar en el duodeno/yejuno y el íleon y luego se conectan a un sistema con recipientes que modelan las tres etapas del intestino grueso (Molly, Vande Woestyne y Verstraete, 1993). Se han realizado numerosos estudios empleando este modelo, estudiando el efecto de fibras dietarias o de productos de desecho industriales en la composición y actividad de la comunidad microbiana (Van de Wiele, Boon, Possemiers, Jacobs y Verstraete, 2004; Terpend, Possemiers, Daguet y Marzorati, 2013; Giuliani et al., 2019). Tiene ventajas sobre los ensayos en humanos, ya que produce resultados reproducibles y permite controlar parámetros fisiológicos para el

estudio mecanicista (Yoo y Chen, 2006). Sin embargo, la función del huésped sólo se reproduce parcialmente, ya que aún faltan respuestas inmunomoduladoras y neuroendocrinas, así como que las bacterias fecales humanas introducidas en los recipientes no representan exactamente la comunidad de las condiciones *in vivo*. Existen varios otros modelos de sistemas continuos multietapa, como EnteroMix, PolyFermS, ECSIM, SIMGI, modificaciones del SHIME (TwinSHIME y M-SHIME), entre otros (Makivuokko, Nurmi, Nurminen, Stowell y Rautonen, 2005; Grootaert et al., 2009; Fera-Gervasio, Denis, Alric y Brugère, 2011; Van den Abbeele et al., 2012; Zihler Berner et al., 2013).

Dependiendo del modelo de fermentación *in vitro* elegido para estudiar el comportamiento de la microbiota intestinal humana frente a un determinado sustrato, se suelen emplear diferentes medios de cultivo adecuados para dicho sistema. Si bien no existe un consenso para cada modelo o tipo de ensayo, es importante destacar que el uso de diferentes medios modifica los resultados obtenidos para un mismo experimento en términos de los metabolitos obtenidos y/o los perfiles de los mismos, así como las poblaciones microbianas cuyo crecimiento es estimulado o inhibido (Simonelli, 2018). En general, en ensayos de fermentación en lote en los que se busca evaluar el efecto de algún potencial prebiótico, se suele emplear un medio basal sin hidratos de carbono, al cual se le adiciona el sustrato de interés y se inoculan con cepas microbianas específicas o con una suspensión líquida de materia fecal obtenida de voluntarios, para reproducir el ecosistema microbiano del colon humano (Al-Tamimi, Palframan, Cooper, Gibson y Rastall, 2006; Aguirre, Ramiro-

García, Koenen y Venema, 2014; Medrano, Gangoiti, Simonelli y Abraham, 2020). Las suspensiones preparadas se dispensan en tubos, frascos o biorreactores y se incuban a una determinada temperatura durante el tiempo de duración del ensayo, luego del cual se trata las muestras según el protocolo establecido. Cuando se trabaja con materia fecal humana, los medios de cultivo son adicionados con nutrientes específicos que estimulan el crecimiento de microorganismos simulando el contexto del ecosistema colónico, como hemina, sales biliares y vitaminas.

Otro de los parámetros en los cuales no existe un consenso global y es de suma relevancia en los ensayos de fermentación *in vitro* con materia fecal humana, ya sean en lote o continuos, es la cantidad de individuos cuya materia fecal se emplea para el experimento. Algunos autores eligen usar materia fecal fresca obtenida de un único donante, mientras que otros preparan un *pool* con materia fecal procedente de varios donantes (Aguirre et al., 2014). Uno de los argumentos para la elección de *pools* es que permite aumentar la cantidad de inóculo fecal en casos donde se dificulta obtener grandes cantidades de material. Asimismo, quienes apoyan el uso de *pools* de materia fecal sostienen que combinado con el almacenamiento congelado permitiría el uso repetitivo o la obtención de un inóculo fecal estandarizado (Aguirre et al., 2015). Al unificar materia fecal de distintos sujetos de estudio se eliminan por completo las diferencias interindividuales y se crea una microbiota que no es representativa del estado real de ninguno de los sujetos involucrados (De Paepe, Kerckhof, Verspreet, Courtin y Van de Wiele, 2017; Lunken et al., 2017; Poeker et al., 2018). El uso de microbiota de diferentes individuos permitirá analizar la

diversidad de respuestas, y el uso de *pool* permitirá obtener aproximaciones de respuestas globales a diferentes compuestos de la dieta en forma comparativa. En este sentido, los resultados experimentales que mostramos en esta obra (Capítulo 3 y Capítulo 4) fueron obtenidos realizando las fermentaciones *in vitro* de manera individual, es decir, sin unificar las muestras en *pools*, justamente resaltando la respuesta individual.

Adicionalmente a la procedencia del inóculo fecal, en los modelos de simulación *in vitro* de MIH existe la discusión metodológica sobre la posibilidad de utilizar materia fecal congelada en reemplazo de un inóculo fresco. Es preferible utilizar heces frescas para la inoculación dado que se aproxima de manera más fiable a la situación *in vivo*, al producirse la menor pérdida de especies microbianas representativas de la microbiota colónica. No obstante, ya sea por restricciones en la logística de distribución geográfica de las muestras, para poder realizar varios estudios de una misma muestra que extiendan el plazo desde su recolección hasta su uso final, o cualquier otra limitación técnica, puede requerirse el almacenamiento de las muestras fecales. Los distintos protocolos de almacenamiento que han sido estudiados en general consisten en la refrigeración o congelamiento de las heces a diversas temperaturas (4°C, -20°C o -80°C), o la liofilización de las mismas, con el agregado de crioprotectores (glicerol, etanol, trehalosa, maltodextrina, etc.). Se ha evaluado el efecto de los diferentes métodos propuestos principalmente sobre la biodiversidad microbiana de la materia fecal y su posterior funcionalidad biológica, especialmente mediante estudios basados en la secuenciación del gen 16S rRNA (Choo, Leong y Rogers,

2015; Gorzelak et al., 2015; Bassis et al., 2017; Ma et al., 2020). Si bien se ha demostrado que la congelación de materia fecal es válida para análisis de la microbiota mediante métodos de secuenciación masiva, el uso de dicha técnica para analizar la capacidad de fermentar componentes con potencialidad prebiótica aún no se ha validado.

Es de interés remarcar la capacidad de las bacterias colónicas de fermentar carbohidratos complejos que generan metabolitos tales como ácidos grasos de cadena corta (AGCC) (Musso, Gambino y Cassader, 2010). Entre ellos se pueden destacar propionato, butirato y acetato (Louis, Hold y Flint, 2014). Estos AGCC son rápidamente absorbidos por las células epiteliales en el tracto gastrointestinal donde participan en la regulación de procesos celulares tales como la expresión génica, la quimiotaxis, la diferenciación, la proliferación y la apoptosis (Corrêa-Oliveira, Fachi, Vieira, Sato y Vinolo, 2016). En general, la ingestión de carbohidratos no digeribles (como fibra y/o prebióticos) conduce a un aumento de la fermentación colónica, aumento del tránsito intestinal y la producción de heces y disminución del pH de la luz intestinal.

La producción o no de estos compuestos dependerá de cada fibra o compuesto prebiótico y de la microbiota de cada individuo por ello uno de los métodos más utilizados para evaluar la modulación de la actividad metabólica de los compuestos de la dieta es la cuantificación de estos compuestos mediante cromatografía líquida o cromatografía gaseosa (Bengoa, Dardis, Gagliarini, Garrote y Abraham, 2020; Medrano et al., 2020).

Conclusión

El uso de modelos *in vitro* para evaluar cambios en la microbiota intestinal ha ido evolucionando desde simple modelos en *batch* a modelos que intentan imitar las diferentes funciones fisiológicas de tracto digestivo.

Los modelos simples permiten evaluar el efecto de diferentes fibras o prebióticos en la microbiota intestinal teniendo la ventaja de que se pueden seleccionar microbiotas de grupos etarios específicos o individuos con diferentes estados de disbiosis ya sea mediante el uso de *pool* o analizando la respuesta de cada microbiota en particular permitiendo realizar estudios comparativos y plantear hipótesis sobre el impacto de compuestos definidos de la dieta en la microbiota. Tienen la ventaja de ser menos costosos y complejos pudiendo realizarse en laboratorios con equipamiento simple.

Además, la evaluación de los metabolitos producidos debido al uso de un determinado compuesto del alimento por la microbiota permite conocer aquellos compuestos que contribuyan positivamente a la biosíntesis de AGCC como acetato, propionato y butirato cuyas efectos biológicos positivos están ampliamente documentados.

Los modelos existentes se han diseñado teniendo en cuenta la pregunta que se desea resolver. Los modelos continuos son más complejos y pretenden simular de manera más precisa las funciones del tracto gastrointestinal, aunque ninguno cubre todos los aspectos (digestión, absorción, fermentación por microbiota,

interacción con la célula epitelial). Lo importante, más allá del modelo elegido para evaluar la fermentación de compuestos de la dieta por la microbiota, es conocer las limitaciones de cada método para obtener las conclusiones adecuadas al modelo elegido.

Capítulo 3

La microbiota individual responde de manera diferente frente a la fermentación de una misma fibra

María Virginia Gangoiti¹, Nicolas Simonelli^{2,3}, Micaela Medrano ^{2,3}, Analía Abraham^{3,4}

Como se mencionó en la introducción, la composición de la microbiota intestinal no se repite entre individuos, y se asemeja a la huella digital. De acuerdo con esto, es de esperar que la microbiota de cada persona responda de manera diferente frente a un mismo estímulo dietario. En nuestro grupo trabajamos con fibras dietarias prebióticas, en particular, con un polisacárido producido por bacterias ácido lácticas (BAL) presentes en los gránulos de kefir de leche. Este polisacárido se denomina kefiran

¹ Laboratorio de Investigaciones en Osteopatías y Metabolismo Mineral (LIOMM, FCE-UNLP - CIC-PBA).

² Laboratorio de Alimentos, Salud y Microbiota (LASYM), Instituto Ciencias de la Salud, UNAJ.

³ Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CIDCA) (CONICET-UNLP-CIC).

⁴ Área Bioquímica y Control de Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

y tiene la particularidad de que, debido a sus enlaces químicos, no puede ser degradado por las enzimas presentes en nuestro tracto digestivo, por lo tanto, llega intacto al intestino grueso donde puede ser fermentado por la microbiota intestinal produciendo ácidos grasos de cadena corta (AGCC): acetato, propionato y butirato.

En el presente capítulo mostraremos qué sucede cuando exponemos diferentes microbiotas intestinales humanas a un mismo polisacárido, en este caso el kefiran. En una primera parte hablaremos brevemente de la obtención del kefiran y su capacidad de actuar como prebiótico. Luego describiremos las características de las microbiotas intestinales de los individuos que participaron en este estudio. A continuación, presentaremos los resultados obtenidos de las fermentaciones del kefiran por las diferentes microbiotas. Por último, se comentarán los resultados más destacados de la actividad biológica principalmente del butirato sobre células tumorales de intestino.

Importancia de la fermentación colónica de los polisacáridos

La fibra dietaria puede inducir cambios en la microbiota intestinal. Dentro de este grupo de polisacáridos no digeribles, algunos de ellos son capaces de modificar específicamente determinados microorganismos beneficiosos del colon, como las bifidobacterias y los lactobacilos. Estos microorganismos producen AGCC, que tienen un efecto benéfico en la salud del hospedador.

Muchos de estos compuestos prebióticos derivan de fuentes vegetales, pero los polisacáridos sintetizados por BAL también son candidatos para usarse como ingredientes prebióticos ya que son producidos por microorganismos con estatus GRAS (*Generally Recognized as Safe*, o generalmente reconocidos como seguros), por lo que podrían incluirse fácilmente como aditivo en alimentos funcionales o sinbióticos (Salazar, Gueimonde, de los Reyes-Gavilan, y Ruas-Madiedo, 2016; Zannini, Waters, Coffey y Arendt, 2016).

Los alimentos fermentados no sólo contienen los microorganismos utilizados como iniciadores (ocasionalmente probióticos), sino que también contienen los metabolitos producidos por ellos, como los EPS y el lactato, que contribuyen a la textura y las características organolépticas de los productos y aportan un efecto saludable a estos alimentos fermentados (Abraham, Medrano, Piermaria y Mozzi, 2010; Garrote, Abraham y Rumbo, 2015; Caggianello, Kleerebezem y Spano, 2016; Laiño, Villena, Kanmani y Kitazawa, 2016).

Muchos EPS producidos por BAL no son hidrolizados por las enzimas digestivas humanas por lo que pueden llegar al intestino grueso e interactuar con las células del hospedador mediante contacto directo con el epitelio intestinal y/o modulando la microbiota intestinal y la posterior producción de metabolitos con actividad biológica. Esta modulación de la microbiota intestinal y/o de su metabolismo, al ser censada por las células epiteliales, podría desencadenar una respuesta

inmunomoduladora (Medrano, Racedo, Rolny, Abraham y Pérez, 2011).

Kefiran

El kefiran es el EPS producido por BAL presentes en los gránulos de kefir (Rimada y Abraham, 2001). Constituye la matriz de los gránulos de kefir (9-10 %) de donde se puede extraer con un grado de pureza superior al 99 %. Químicamente, el kefiran es un glucogalactano hidrosoluble ramificado compuesto por cantidades iguales de D-glucosa y D-galactosa unidas por enlaces glicosídicos α 1-4 y β 1-6 y peso molecular superior a 10^6 Da que podría usarse como aditivo alimentario porque mejora las propiedades viscoelásticas de geles ácidos lácteos como los yogures (Rimada y Abraham, 2006), tiene capacidad gelificante (Piermaria, de la Canal y Abraham, 2008) y forma películas comestibles (Piermaria, Pinotti, García y Abraham, 2009).

Existen muchos estudios realizados para investigar la actividad biológica del kefiran y su efecto positivo en la salud (Moradi y Kalanpour, 2019). Vinderola y col. (2006) demostraron la capacidad del kefiran para incrementar la liberación de IgA y modificar los perfiles de citoquinas en ratones Balb /c después de la administración oral, mientras que Medrano et al. (2011) demostraron la capacidad de modificar el equilibrio de las células inmunitarias en el mismo modelo experimental. Por otra parte, se ha estudiado la fermentación del kefiran por la microbiota intestinal con respecto a su efecto bifidogénico, que se demostró al administrar kefir (Erdogan, Ozarslan, Guzel-Seydim y Taş, 2019) o kefiran (Hamet, Medrano, Pérez y Abraham, 2016) por

vía oral a ratones Balb /c. La capacidad del kefirán para interactuar con enterocitos humanos cultivados podría ser relevante por el efecto biológico que desencadena *in situ* en la mucosa intestinal (Medrano, Hamet, Abraham y Pérez, 2009). El efecto del kefirán en la prevención del establecimiento de tumores se estudió *in vivo* hace muchos años. Shiomi et al. (1982) estudiaron la inhibición del crecimiento en tumores inducidos en ratones después de la administración oral e intraperitoneal de kefirán 7 días antes de la inducción. El crecimiento de los tumores fue inhibido por la administración oral e intraperitoneal de kefirán. Más recientemente, Elsayed et al. (2017) estudiaron *in vitro* la actividad citotóxica del kefirán producido por la cepa *Lactobacillus kefiranofaciens* subsp *kefiranofaciens* ATCC 8007 en cultivos celulares de cáncer de cuello uterino (HeLa) y cáncer de hígado (HepG2). El kefirán disminuyó significativamente la viabilidad celular (ensayo MTT), de forma dependiente de la concentración. Además, el efecto antiproliferativo de nanofibras de kefirán en células de cáncer de mama (MCF-7) se estudió mediante la medición de la actividad mitocondrial (ensayo MTT) por Jenab et al. (2020).

En resumen, el mecanismo de acción de este polisacárido y su acción benéfica para la salud podrían explicarse a través de tres mecanismos que actuarían solos o de manera sinérgica: i) interacción directa del polímero con las células intestinales; ii) estimulación de poblaciones bacterianas benéficas y producción de metabolitos con actividad biológica); y/o iii) modulación del sistema inmune y respuesta sistémica (Simonelli, Gagliarini, Medrano, Piermaria y Abraham, 2022).

El kefirán utilizado en el presente estudio se extrajo como lo describieron anteriormente Rimada y Abraham (2003) mediante precipitación con etanol, centrifugación y disolución en agua destilada caliente. Las soluciones de kefirán con una pureza superior al 99 % se liofilizaron y se mantuvieron a temperatura ambiente hasta su uso.

Selección de los individuos y muestras de microbiota

Las muestras de materia fecal provenientes de diez niños sanos con edades comprendidas entre 4 meses y 3 años fueron recolectadas por los padres y entregadas al laboratorio acompañadas de una nota de consentimiento informado y una breve encuesta que permitiera caracterizar las materias fecales. Los datos recabados se presentan en la Tabla 1. El análisis pretendía cubrir muestras provenientes de niños con diferentes dietas y nacidos por cesárea o parto natural y que no habían sido tratados con antibióticos durante los 3 meses anteriores al estudio. Las muestras se mantuvieron a 4 °C y se procesaron dentro de las 4 horas posteriores a su deposición. El diseño experimental fue evaluado y aprobado por el Comité Central de Bioética de la Universidad Nacional de La Plata (Mayo de 2017).

Tabla 1: Recopilación de datos obtenidos de la encuesta inicial. PN: parto natural CS: cesárea; PP: parto prematuro, NT: Nacido a término. n/a: no aplica; L: dieta láctea; O: dieta omnívora (verduras, frutas, carne, huevos y yogur); ?: datos desconocidos. ATB: antibióticos.

Fuente: publicado en Medrano et al. (2020).

	Muestras									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Edad (meses)	4	10	12	13	17	18	22	24	24	36
Modo de parto	PN	PN	PN	PN	PN	CS	PN	CS	PN	CS
Edad gestacional al nacer (meses)	9 NT	9 NT	9 NT	9 NT	9 NT	9 NT	9 NT	8 PP	9 NT	8 PP
Admisiones de hospital	No	No	No	No	No	No	No	si NN	No	si NN
Amamantado	si	si	si	si	si	si	si	si	si	si
Edad hasta que se alimentó con leche materna (meses)	n /a	5	10	3	12	3	14	5	12	4
Alimentado con fórmula	no	si	si	si	si	si	si	si	si	si
Edad que empezó a tomar leche de fórmula (meses)	n/a	5	6	0	6	2	14	5	12	0
Leche de vaca	No	No	No	si	No	si	si	si	si	si
Edad que empezó a beber leche de vaca (meses)	n/a	n/a	n/a	12	n/a	?	20	?	?	?
Dieta	L	O	O	O	O	O	O	O	O	O
Afecciones crónicas	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No
Medicamentos	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No

Primogénito (Si no: n° de hermanos mayores)	No (1)	No (1)	Sí	Sí	Sí (1)	No (5)	No (1)	No (1)	Sí	Sí
ATB en los 6 meses previos	No	Sí	No	No	No	No	No	No	No	No
Consumo de probióticos	No	No	No	No	No	No	No	No	No	No

Según Gomaa (2020) la edad del hospedador afecta significativamente la composición de la microbiota. La colonización de la microbiota varía según la vía de parto (vaginal o cesárea). La colonización más extensa de la microbiota aparece inmediatamente después del nacimiento; los primeros microorganismos que aparecen en el intestino son bacterias aeróbicas pertenecientes al *Phylum Proteobacteria*. Estos microorganismos disminuyen la concentración de oxígeno y permiten la posterior colonización por otras bacterias anaeróbicas pertenecientes a los *Phyla Firmicutes, Actinobacteria y Bacteroides* (Del Chierico et al., 2015).

El período más importante de establecimiento y desarrollo de la microbiota intestinal es el primer año de edad. La diversidad taxonómica es relativamente baja al nacer, pero aumenta con el tiempo (Schanche et al., 2015). En la infancia (2 a 5 años), la composición de la microbiota intestinal se vuelve más estable con múltiples miembros de *Firmicutes* y *Bacteroidetes*, incluidos aquellos con capacidad de producción de butirato (Fouhy et al., 2019). En las personas de edad avanzada, se produce una reducción significativa de bifidobacterias y bacteroides, así como de la actividad amilolítica y de la producción de AGCC. Además, se ha confirmado un mayor número de anaerobios facultativos,

fusobacterias, clostridios y eubacterias (Thompson, Monteagudo-Mera, Cadenas y Azcarate-Peril, 2015).

Ácidos grasos de cadena corta en las muestras de materia fecal (AGCC) en las muestras de materia fecal

Analizando las proporciones de AGCC y del lactato en las muestras de materia fecal incluidas en el estudio, se encontraron algunas variaciones, aunque las muestras se pudieron agrupar en 4 grupos según la abundancia de estos productos. La agrupación también podría estar relacionada con la edad de los donantes, el tipo de alimentos que consumen y su historia personal.

El grupo I incluyó las muestras provenientes de los individuos más jóvenes (excepto la muestra 4), con edades comprendidas entre 3 y 13 meses (muestras 1, 2 y 4).

El grupo II incluyó las muestras provenientes de los individuos 6 y 10 (dos bebés nacidos por cesárea).

El grupo III incluyó muestras provenientes de dos individuos de edad cercana (muestras 5 y 7, de 17 y 22 meses, respectivamente).

El grupo IV incluyó las muestras provenientes de los individuos 8 y 9 (24 meses) y la muestra 3 (excepción, más joven).

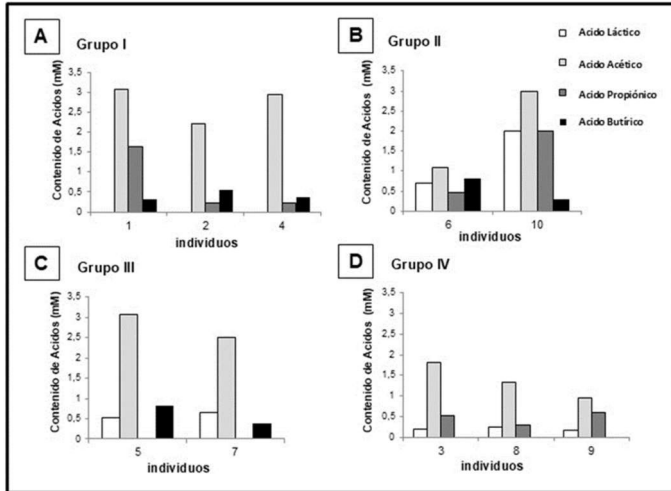


Figura 1: Cantidad de ácido acético, láctico, propiónico y butírico presente en muestras fecales de los 10 individuos agrupados por grupos (I a IV). Eje Y: contenido de ácidos orgánicos (expresado en mM; eje X: número de individuos. Clave ácidos: (□) Láctico; (■) Acético; (■) Propiónico; (■) Butírico. Adaptado de Medrano et al., (2020).

La presencia de ácido láctico en los Grupos II, III y IV podría atribuirse al consumo de yogur en bebés con dieta omnívora (mayores de 13 meses), donde el yogur es un componente importante de la dieta. Concomitantemente, un corto tiempo de ayuno antes de la deposición (pregunta no incluida en la encuesta inicial) podría traducirse en altos valores de ácido láctico producido por bifidobacterias y lactobacilos, ya que no hubo tiempo suficiente para ser utilizado como sustrato por bacterias productoras de propionato o butirato en el colon. La ausencia de

propionato (Grupo III) o butirato (Grupo IV) podría sustentar esta hipótesis (den Besten et al., 2013).

Tal diversidad en los ácidos orgánicos encontrados en muestras fecales está en línea con la evidencia previamente reportada de variación interindividual en la microbiota fecal; múltiples perfiles de AGCC y lactato pueden indicar una microbiota diferente o una actividad metabólica diferente del consorcio (Franks et al., 1998; Ley, Turnbaugh, Klein y Gordon, 2006; Walker et al., 2011; Kolodziejczyk et al., 2019). Como factores relevantes que influyen en la microbiota intestinal se pueden mencionar: colonización prenatal (Matamoros, Gras-Leguen, Le Vacon, Potel, y de La Cochetiere, 2013; Collado et al., 2016; Walker, Clemente, Peter y Loos, 2017), que podrían verse afectados por infecciones, consumo de medicamentos, estrés, alimentación y suplementación con probióticos o prebióticos durante el embarazo (Rautava, Kainonen, Salminen y Isolauri, 2012); modo de nacimiento (parto natural o césarea), edad gestacional, alimentación inicial (Matamoros et al., 2013). La leche materna es una vía adicional de colonización (Pérez et al., 2007) realizada por la circulación enteromamaria (Bergmann, Rodríguez, Salminen y Szajewska, 2014) y se sabe que el microbioma de la leche humana podría verse afectado por el estado psicosocial postnatal materno (Fernández et al., 2019). A pesar de las diferencias en los perfiles de AGCC y lactato encontradas entre las muestras iniciales, todas ellas (de 1 a 10) pudieron fermentar kefirán y producir ácidos orgánicos (Figura 2).

Fermentación in vitro

Para estudiar la capacidad de fermentar kefirán por parte de estas microbiotas, se formuló un medio de cultivo basal sin azúcares según Al-Tamimi et al. (2006). A partir de este medio basal se prepararon otros medios con la adición de diferentes fuentes de carbohidratos en una concentración final de 300 mg/L. Se utilizaron kefirán, glucosa (control positivo) y un control negativo sin el agregado de carbohidratos. Estos medios se ajustaron a pH 7,0-7,5, se inocularon con muestras fecales diluidas 1/10 (p/v) en medio basal según Al-Tamimi et al., (2006) y se incubaron a 37 °C en condiciones anaeróbicas durante 24 y 48 horas.

Análisis de los productos resultantes de la fermentación

Algunos de los principales productos del metabolismo de la microbiota intestinal son los AGCC, incluidos el ácido acético, propiónico y butírico, que se producen mediante la fermentación de la fibra por bacterias intestinales, particularmente por miembros del *Phylum Firmicutes* (Schwiertz et al., 2010; Morrison y Preston, 2016). El ácido láctico puede estar presente en trazas o estar ausente (den Besten et al., 2013).

A pesar de las diferencias en los perfiles de AGCC y lactato encontradas entre las muestras iniciales de materia fecal de los donantes, todas ellas pudieron fermentar kefirán y producir ácidos orgánicos provocando la acidificación del medio de cultivo *in situ* (Figura 2) los cuales fueron determinados por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Después de 24 h de fermentación, se evidenció un aumento en la concentración de los 4 ácidos estudiados, mientras que los perfiles de ácidos

orgánicos mantuvieron la proporción molar encontrada en las muestras fecales iniciales (Figura 1), excepto en el Grupo III, donde se observó un aumento en la proporción molar de ácido propiónico.

Curiosamente, después de 48 h de fermentación, los perfiles giraron hacia la abundancia de otros ácidos orgánicos, diferentes a los iniciales (Figura 2). La producción de ácidos orgánicos después de 48 h de fermentación se realizó para agrupar las muestras de la siguiente manera:

- a) una alta proporción de ácido acético y propiónico: muestras 1 y 5;
- b) una proporción elevada de ácido acético: muestras 7 y 4;
- c) una proporción elevada de ácido propiónico: muestras 2, 3, 9 y 10;
- y d) ningún ácido particularmente predominante: muestras 6 y 8.

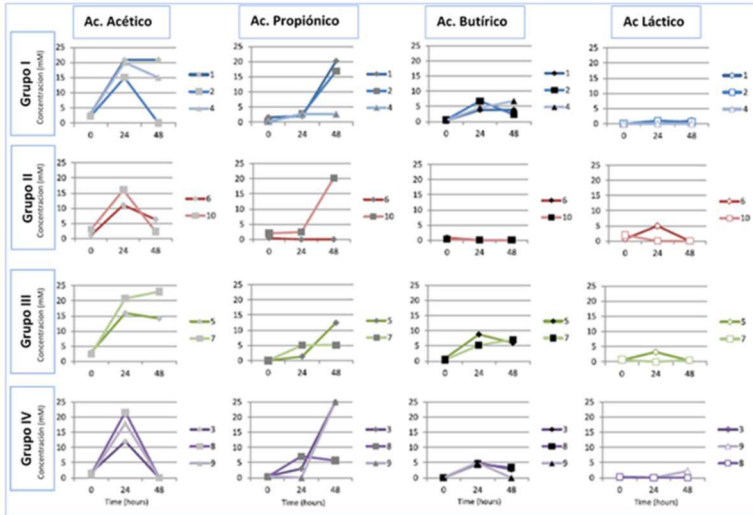


Figura 2: Ácidos orgánicos producidos después de 24 y 48 h de fermentación de kefiran. Resultados pertenecientes a medios que contienen kefiran inoculados con muestras fecales de los 10 individuos. Los resultados se agrupan por grupos (I a IV). Eje Y: contenido de ácidos orgánicos (mM). Eje X: tiempo (horas). Los ácidos acético, propiónico, butírico y láctico se muestran en columnas. Los grupos I a IV se muestran en filas. GRUPO I (azul): individuos 1, 2 y 4; GRUPO II (rojo): individuos 6 y 10; GRUPO III (verde): individuos 5 y 7; GRUPO IV (morado): individuos 3, 8 y 9. Gráfico publicado en Medrano et al. (2020).

Los cambios en los perfiles de AGCC están relacionados con cambios en la expresión genética de la microbiota o al favorecimiento de algunas poblaciones que son capaces de fermentar la molécula (Hamet et al., 2016; Walker et al., 2011). La producción de diferentes perfiles de ácidos orgánicos a partir de la fermentación de kefiran es una señal de la estimulación

diferencial de la microbiota y/o sus vías metabólicas, ya que fue significativamente diferente de los medios que contienen glucosa o de los medios sin azúcar (Tablas 2a y 2b).

Tabla 2.a: Producción de AGCC y ácido láctico (expresado en mM) después de 48 h de fermentación (medio sin azúcar). Publicado en Medrano et al. (2020).

Medio fermentado sin azúcar (48 h)	GRUPO I			GRUPO II		GRUPO III		GRUPO IV		
	1	2	4	6	10	5	7	3	8	9
Ácido láctico (mM)	0*	0*	0	0	0	3,24*	0*	0,28*	0	0*
Ácido acético (mM)	3,2*	11,7*	11,7*	5,73*	0	15,4*	15,7*	1,14*	0	0
Ácido propiónico (mM)	14,9*	0*	0*	0	31,05*	1,7*	3,64*	21,60*	1,4*	1,9*
Ácido butírico (mM)	2,72*	4,54*	4,54*	0	1,13*	8,9*	3,5*	2,43*	1,13*	0

*significa diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre el medio control glucosa y el medio kefiran para las mismas condiciones experimentales (Figura 2).

Tabla 2.b: Producción de AGCC y ácido láctico (expresada en mM) después de 48 h de fermentación (300 mg/L de medio de glucosa). Publicado en Medrano et al. (2020).

Medio de glucosa fermentado (48 h)	GRUPO I			GRUPO II		GRUPO III		GRUPO IV		
	1	2	4	6	10	5	7	3	8	9
Ácido láctico (mM)	0*	0*	0	6,13*	11,10*	0*	19,03*	0,7*	8,9*	0*
Ácido acético (mM)	0*	20*	16,7*	13,21*	0	22,30*	17,94*	0	0	0
Ácido propiónico (mM)	20,3	5,40*	5,40*	0	2,70*	15,1*	5,6	4,60*	12,2*	4,9*
Ácido butírico (mM)	1,13*	4,54*	4,54*	0	2,3*	9,32*	9,9*	0*	0*	3,14*

*significa diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre el medio control glucosa y el medio kefiran para las mismas condiciones experimentales (Figura 2).

Vale la pena señalar que los principales cambios en los AGCC y los perfiles de lactato se obtuvieron después de 48 h de fermentación de kefiran. En este sentido, Lam et al. (2018) encontraron una correlación entre el peso molecular (PM) del polisacárido estudiado y el mantenimiento de su efecto prebiótico. Estos autores demostraron que galacto-oligosacáridos (GOS) y fructo-oligosacáridos (FOS) mantuvieron por menor tiempo el efecto prebiótico (48 h) en comparación con la inulina (100 h) y correlacionaron un alto PM con un mayor tiempo de aparición de los cambios en la microbiota. Propusieron que los polisacáridos de alto peso molecular podrían ser ingredientes prebióticos

alternativos a las fórmulas infantiles, siendo por tanto el kefir un candidato potencial.

De acuerdo con nuestros resultados, los estudios *in vivo* del efecto de la administración oral de kefir a ratones Balb /c indican un efecto bifidogénico después de 48 h de administración de lácteos, que se mantuvo hasta por 7 días (Hamet et al., 2016). Las bifidobacterias son sintetizadoras de ácido acético y láctico y ambos ácidos orgánicos sirven como sustrato para que otras bacterias produzcan ácido propiónico y butírico (Duncan, Louis y Flint, 2004; Cantu-Jungles, Cipriani, Iacomini, Hamaker y Cordeiro, 2017).

Las vías de producción de AGCC se comprenden relativamente bien y se describen en detalle (den Besten et al., 2013; Louis et al., 2014; Morrison y Preston, 2016). En nuestros resultados, los valores más altos de ácido acético a las 24 h y los valores más altos de ácido propiónico y butírico a las 48 h (Figura 2) evidencian que el ácido acético podría haberse convertido en ácido butírico o propiónico. El propionato probablemente se ha sintetizado a través de la vía de descarboxilación del succinato, ya que no se encontró que el lactato fuera lo suficientemente abundante como para servir como fuente de valores tan altos de propionato, mientras que el butirato probablemente se haya sintetizado mediante pequeñas cantidades de acetato o mediante la condensación de dos moléculas de acetyl CoA.

Evaluación del impacto de los productos de fermentación en los cultivos celulares

Existe suficiente evidencia de que los prebióticos son capaces de disminuir la incidencia del cáncer de colon en diferentes modelos murinos *in vivo*. Varios autores han encontrado que el tratamiento prebiótico conduce a una disminución de las lesiones preneoplásicas (Buddington, Donahoo y Buddington, 2002; Verghese, Rao y Chawan, 2002; Jacobsen, Poulsen y Dragsted, 2006). Además, solo las fibras capaces de generar butirato son capaces de inhibir la formación de lesiones preneoplásicas (Perrin, Pierre y Patry, 2001; Donohoe et al., 2014; Prasad y Bondy, 2019).

Se observó una disminución de la proliferación celular y un incremento en los procesos de muerte celular cuando se incubaron sobrenadantes que contenían aproximadamente 2,3 mM de ácido butírico con células tumorales (Figura 3), lo que está en línea con el efecto reconocido del butirato sobre las células malignas (Sengupta, Muir y Gibson, 2006; Donohoe et al., 2014; Chapkin, Navarro, Hullar y Lampe, 2020). Dicha concentración concuerda con estudios previos, donde a 5 mM, el butirato afectó específicamente a poblaciones adherentes de células HT-29, provocando un aumento en el número de células que progresan a un fenotipo diferenciado e iniciando la apoptosis (Heerdt, Houston y Augenlicht, 1994).

Hasta donde sabemos, no hay evidencia científica que demuestre que el kefirán y los productos fermentados a partir del kefirán puedan dañar las células intestinales no cancerosas, al menos en las mismas dosis que las encontradas en el producto fermentado

(300 mg/L). Esto está respaldado por el largo tiempo de consumo de kefir por parte de los humanos (Sharifi et al., 2017) y por algunos experimentos *in vivo*, donde la administración oral a ratones no mostró ningún daño o inflamación de las células intestinales (Vinderola et al., 2006; Medrano et al., 2011). Además, no se observó citotoxicidad del kefirán en células embrionarias de pez cebra no cancerosas (Elsayed et al., 2017).

En cuanto al efecto del butirato (como producto de la fermentación del kefirán), su efecto sobre las células HT-29 podría explicarse por la llamada “paradoja del butirato”, que afirma el doble efecto de este ácido orgánico, que es un sustrato trófico para enterocitos normales, pero induce selectivamente la apoptosis en células neoplásicas (Donohoe Curry y Bultman, 2013).

Aunque el efecto biológico encontrado en nuestros experimentos podría atribuirse en un principio al butirato (debido a su capacidad demostrada para inducir procesos de muerte celular en líneas celulares tumorales), la actividad de los otros ácidos orgánicos encontrados en el sobrenadante u otros metabolitos no identificados producidos por la microbiota intestinal, no debe subestimarse, ya que el acetato y el propionato también fueron capaces de inducir apoptosis en líneas celulares tumorales colorrectales, aunque en mucha menor medida que el butirato (Hague, Elder, Hicks y Paraskeva, 1995). Nuestros hallazgos están en línea con tales resultados, como se muestra en los controles individuales de ácidos orgánicos (Figura 3B).

Estos resultados (publicados en Medrano et al., 2020) fueron los primeros en abordar la fermentación *in vitro* de kefirán utilizando como inóculo bacterias provenientes del colon humano, así como en primer trabajo en evaluar el efecto biológico de los metabolitos producidos. Teniendo en cuenta la relación propuesta entre EPS, tejido linfático asociado a mucosa (MALT) y microbiota (Qi y Tester, 2020), y a la vista de los resultados presentados en el presente trabajo, se puede postular que la actividad biológica del kefirán podría atribuirse -al menos en parte- a su capacidad de ser fermentado por la microbiota en una respuesta que depende del individuo, produciendo acetato, propionato, butirato y lactato, que tienen un efecto biológico sobre las células tumorales intestinales.

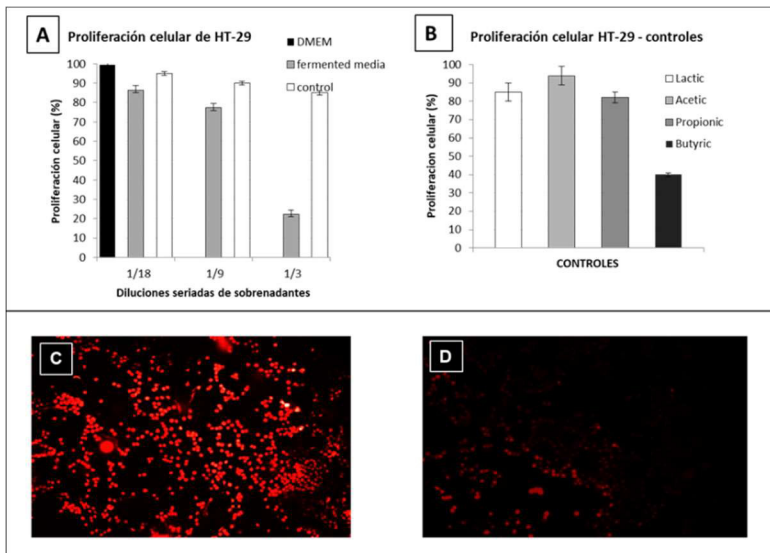


Figura 3: Actividad biológica del medio fermentado con kefirán que contiene ácidos orgánicos y otros metabolitos. Adaptado de Medrano

et al. (2020). (A) Porcentaje (%) de células HT-29 provenientes de adenocarcinoma de colon que proliferaron después de ser incubadas durante 48 horas con diluciones seriadas de medio fermentado con kefiran (barras grises, Muestra 7) y medio no fermentado (barras blancas). Las barras negras representan el medio de control (DMEM). Las células en proliferación se cuantificaron mediante un ensayo de cristal violeta. Los valores representan la media \pm desviación estándar.

**indica diferencias significativas entre tratamientos mediante la prueba t de Student ($p \leq 0.05$). N=3 (tres experimentos independientes, por triplicado). (B) Porcentaje (%) de células HT-29 proliferaron después de ser incubadas durante 48 horas con la misma concentración de ácidos orgánicos encontrada en la muestra 7 (dilución 1/3: ácido butírico 2,3 mM, acético 8 mM y propiónico 1,6 mM) y Ácido láctico 1,7 mM. ** indica diferencias significativas entre los controles de ácidos orgánicos y el control DMEM comparados mediante la prueba t de Student ($p \leq 0.05$). (C) Micrografía representativa de células HT-29 tratadas durante 48 h con sobrenadante neutralizado (dilución 1/3) de medio de kefiran fermentado (Muestra 7) que contiene ácidos orgánicos y teñidas con yoduro de propidio (Ampliación: 20X). (D) Micrografía representativa de células HT-29 tratadas durante 48 h con sobrenadante neutralizado de medio de control no fermentado y teñidas con yoduro de propidio (Ampliación: 20X).

Conclusión

Los resultados obtenidos en este estudio evidencian que el kefiran es susceptible de ser fermentado por la microbiota intestinal humana, como se observó en todas las muestras fecales analizadas. Este proceso de fermentación indujo la acidificación del medio de cultivo y la producción de diversos ácidos orgánicos, entre los cuales el ácido acético fue predominante a las 24 horas, mientras

que el ácido propiónico y, en algunos casos, el ácido butírico, mostraron un aumento significativo a las 48 horas de incubación. La actividad biológica de una muestra fermentada con alta concentración de ácido butírico fue evaluada *in vitro* sobre la línea celular tumoral de colon HT-29, observándose una reducción en la proliferación celular y una activación de mecanismos asociados a la muerte celular.

En conjunto, estos hallazgos respaldan el potencial del kefirán como un sustrato fermentable capaz de generar metabolitos con posibles efectos beneficiosos sobre la salud humana. Asimismo, considerando su amplia gama de actividades biológicas y su capacidad para mejorar las propiedades funcionales de los alimentos, el kefirán se perfila como un biopolímero promisorio para su aplicación como aditivo alimentario. Por último, cabe destacar que la leche fermentada tipo kéfir, elaborada de manera artesanal en el ámbito doméstico, constituye una fuente natural y accesible de este polisacárido funcional, lo que refuerza su valor como componente de una dieta saludable.

Créditos

Los resultados presentados en este capítulo, realizados en los laboratorios del CIDCA y del Área Bioquímica y Control de Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, fueron publicados en Medrano et al., (2020) y sentaron las bases de los trabajos que actualmente se llevan a cabo en estos laboratorios de UNAJ en colaboración con CIDCA-UNLP.

Capítulo 4

Comparación del efecto que tienen distintos polisacáridos en la microbiota de los individuos

Natalia Moreira¹, Martin Reymar¹, Nicolas Simonelli^{1,2}, Judith Piermaria², Micaela Medrano^{1,2}

Como se mencionó en la introducción y en capítulos anteriores, la microbiota intestinal es un ecosistema que no se repite entre individuos de la misma especie. Esto conlleva a que un mismo estímulo alimentario, no necesariamente va a tener el mismo efecto en todos los individuos (Kolodziejczyk et al., 2019; Singh, Ryu y Unno, 2021).

Como se mencionó, el consumo de prebióticos se ha correlacionado con la capacidad de estimular ciertas poblaciones de bacterias intestinales productoras de ácidos grasos de cadena corta, y en particular, de butirato (Scott, Martin, Duncan y Flint,

¹ Laboratorio de Alimentos, Salud y Microbiota (LASYM), Instituto Ciencias de la Salud, UNAJ.

² Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CIDCA) (CONICET-UNLP-CIC).

2014; Oliver et al., 2021). El butirato desempeña un rol clave en los procesos de regulación intestinal, y su producción se correlaciona con la prevención del cáncer de colon ya que es sustrato metabólico para colonocitos “sanos” e induce apoptosis en colonocitos neoplásicos, lo que se conoce como “la paradoja del butirato” (Donohoe et al., 2012, 2013; Scott et al., 2014; Chen y Vitetta, 2018). Se sabe además que el butirato tiene un rol fundamental en el mantenimiento de la homeostasis intestinal, mitigando enfermedades inflamatorias (Zhang et al., 2021). Algunos de los microorganismos productores de butirato son los representantes de la familia *Ruminococcaceae*, del género *Roseburia* (Duncan et al., 2004; Farup, Rud y Hestad, 2016), y las especies *Faecalibacterium prausnitzii* (Sokol et al., 2008) y *Clostridium butyricum* (Chen et al., 2020). Estos microorganismos producen butirato en interacción con otros microorganismos del ecosistema intestinal, como consecuencia de la fermentación de fibras, gracias al *cross feeding*, proceso mediante el cual los productos del metabolismo de ciertos microorganismos son sustrato para que otros microorganismos generen otros productos (Louis y Flint, 2017). Es importante resaltar que la estimulación de la microbiota por el consumo de fibra prebiótica es inmediata, pudiéndose observar los cambios a las 48 h post ingestión (Hamet et al., 2016; Lam et al., 2021).

La estimulación selectiva de diferentes poblaciones bacterianas y de sus metabolitos depende de la composición química de la fibra fermentable: enlaces, peso molecular, ramificaciones, presencia de grupos amino u otros (Gibson et al., 2017). Teniendo en cuenta además que la microbiota individual determina la capacidad de

fermentar fibras dando respuestas diferenciales con variación inter-individuos (Hamet et al., 2016; Medrano et al., 2020), se puede postular que una misma fibra fermentable puede tener diferente respuesta en diferentes individuos que la consuman. Al mismo tiempo, para un mismo individuo, se puede seleccionar *in vitro* la fibra capaz de inducir un incremento en la producción de butirato, para intentar revertir una enfermedad inflamatoria, tal como se postula en investigaciones que proponen “intervenciones dietarias personalizadas” (Chen y Vitetta, 2018; Singh et al., 2021).

Por otro lado, se sabe que alteraciones de la microbiota conducen al estado de disbiosis (ver introducción). La dieta, el estilo de vida, el consumo de antibióticos o el proceso de envejecimiento, van a determinar cambios en la composición de la microbiota y, como consecuencia, van a incrementar el riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles teniendo graves implicaciones para la salud (Kolodziejczyk et al., 2019). En dicho estado de disbiosis, las bacterias que promueven enfermedades proliferan, se altera el balance de metabolitos bacterianos y su concentración, y se pueden presentar disrupciones en la modulación de la inmunidad del hospedador, inflamación crónica y aparición de enfermedades no transmisibles (Satokari, 2015). Además, se reduce la diversidad microbiana y disminuye la población de bacterias estrictamente anaerobias con funciones protectoras, como la producción de ácidos grasos de cadena corta (Walker y Lawley, 2013).

En diversas enfermedades (enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer colorrectal, síndrome metabólico, diabetes) se ha

observado que el estado de disbiosis lleva a una alteración de la función de barrera de las células epiteliales y se pone en contacto el contenido intestinal con otros tejidos, provocando una respuesta inflamatoria. En las enfermedades con reacción inflamatoria se utilizan fármacos antiinflamatorios, pero no se trata la disbiosis intestinal ni se restaura la integridad del epitelio, que es lo que mantiene la homeostasis intestinal.

Los medicamentos antiinflamatorios pueden amortiguar la inflamación intestinal de manera efectiva, pero hoy en día se sabe que la modulación de la microbiota intestinal es una alternativa posible y saludable para la prevención y el tratamiento temprano de algunas patologías de origen inflamatorio. El patrón alimentario establecido en los últimos años se centra en el consumo de alimentos que tengan funcionalidad para la salud y en el desarrollo de nuevos productos alimenticios, con énfasis en el uso de microorganismos probióticos, compuestos prebióticos y combinación de ambos (sinbióticos), entre otros (Hill et al., 2014; Gibson et al., 2017; Barros et al., 2020).

La modulación de la microbiota intestinal a través de la intervención dietaria se ha convertido en una estrategia terapéutica y preventiva emergente para el tratamiento y prevención de muchas enfermedades. En los últimos años se ha comenzado a reconocer la relevancia de la respuesta diferencial e individual, y se propone la implementación de intervenciones dietarias personalizadas, basadas en la respuesta individual de la microbiota, y en que no existe un único prebiótico favorable para

todos los individuos que lo consuman (Kolodziejczyk et al., 2019; Singh et al., 2021).

La microbiota fecal de individuos sin patologías o afectados por patologías intestinales de tipo inflamatorio puede utilizarse en estudios para evaluar la respuesta frente a la administración de diferentes fuentes de fibra con la consiguiente producción de butirato y/o el consiguiente favorecimiento de poblaciones bacterianas benéficas. De este modo, se podría establecer un modo de intervención “personalizado” en la dieta, orientado a la prevención, o a la reversión de la enfermedad en etapas tempranas.

En el marco de proyectos de investigación radicados en la UNAJ (UNAJ Investiga 2020, UNAJ Investiga 2023), así como de tesis de grado para la carrera de Bioquímica (ICS), se trabajó con muestras provenientes de individuos adultos con patologías intestinales de origen inflamatorio. Estos individuos manifestaron su voluntad de donar muestras luego de completar una encuesta difundida por redes sociales (Capítulo 1). La participación de estas personas en los ensayos es sumamente relevante, ya que nos permite avanzar en los estudios relacionados con intervenciones dietarias personalizadas.

El objetivo de este trabajo fue evaluar y comparar *in vitro* la fermentabilidad y el potencial prebiótico de tres polisacáridos obtenidos de biomásas sub-aprovechadas o producidos por microorganismos con estatus GRAS, analizando su capacidad para estimular poblaciones bacterianas específicas y la producción de ácido butírico por parte de la microbiota intestinal humana

proveniente de individuos sanos y con patologías inflamatorias. Por un lado, se evaluó el efecto del glucogalactano proveniente de gránulos de kefir de leche (kefiran), hidrosoluble, compuesto en partes equivalentes por glucosa y galactosa con uniones de tipo α 1-4 en la cadena principal y β 1-6 en las ramificaciones, con un peso molecular superior a 10^6 Da (Piermaria et al., 2008), sintetizado por *Lactobacillus kefiranofaciens* (Hamet et al., 2013). Por otro lado, se evaluó el efecto del dextrano presente en gránulos de kefir de agua, un homopolisacárido insoluble compuesto por glucosa unida por enlaces α 1,6 lineal con un bajo porcentaje de ramificaciones α -1,3 (Fels, Jakob, Vogel y Wefers, 2018). En tercer lugar, se evaluó el efecto de betaglucanos provenientes de paredes de levaduras cerveceras.

Metodología

1. Muestras de microbiota intestinal

Las muestras de materia fecal provenientes de individuos adultos con y sin patologías intestinales fueron entregadas al laboratorio junto con una nota de consentimiento informado, y dentro de las 4 h posteriores a la deposición. El diseño experimental cuenta con el aval del Comité Consultivo Central de Bioética de la UNLP (Diciembre de 2020) y del Comité de ética del Hospital de Alta Complejidad El Cruce Dr. Néstor C. Kirchner (D00019 Julio de 2023).

2. Obtención de polisacáridos (kefir, dextrano, betaglucanos)

El kefir se obtuvo a partir de gránulos de kefir de leche CIDCA AGK1 de acuerdo con Rimada y Abraham (2003) mediante sucesivos pasos de disolución en agua destilada caliente y precipitación con etanol frío. Mediante esta metodología se obtiene un polisacárido con un grado de pureza superior al 99% sin proteínas ni restos de lactosa en su composición final. El polímero se deshidrató en un liofilizador Heto-Lab FD (San Francisco, USA).

La fracción de dextranos proveniente de los gránulos de kefir de agua se extrajo de acuerdo con Fels et al. (2018). Brevemente, los gránulos fueron escurridos y dispersados en 1 litro de solución alcalina (pH 10 con NaOH 1M) y se dejaron en agitación durante 30 min a 60 °C. A continuación, la solución fue neutralizada con HCl y se centrifugó el extracto resultante a 10.000 xg durante 15 minutos. El *pellet* fue resuspendido en etanol frío al 96 % e incubado *overnight*. Luego, la solución fue centrifugada a 10.000 xg 15 min y el *pellet* fue resuspendido en agua destilada caliente para posteriormente ser liofilizado en las mismas condiciones indicadas anteriormente.

Los β -glucanos de paredes de levaduras fueron purificados a partir de crema de levaduras *Sacharomyces cerevisiae* (Estilo: Golden Ale, SafeAle S04, Fermentis, Bélgica) donada por una fábrica de cerveza de La Plata (Dackel). Las levaduras fueron sometidas a un primer paso de lisis (pH 5.0, 50 °C durante 48 h y 80 °C, 15 min en agitación), incubación con NaOH (1M, 80 °C, 2 h en agitación),

centrifugación, incubación con ácido acético (1M, 2 h, 80 °C), lavado y secado. El extracto resultante se liofilizó en un Heto-Lab FD (San Francisco, USA) (Pengkumsri et al., 2017).

3. Fermentabilidad de los polisacáridos *in vitro*

Para llevar a cabo los experimentos de fermentación se preparó un medio de cultivo base según Al-Tamimi et al. (2006). A partir de este medio base se prepararon otros medios a los cuales se les agregaron los polisacáridos en una concentración final de 300 mg/L. Se incluyó un control con glucosa 300 mg/L y un control sin el agregado de azúcares.

Se utilizaron como inóculo muestras de materia fecal de adultos voluntarios afectados por patologías intestinales que no habían recibido un tratamiento antibiótico en los últimos 6 meses previos a la realización del ensayo (n=5). Tres de los donantes tienen antecedentes de pólipos intestinales. Uno de ellos, tiene diagnóstico de colitis ulcerosa, y otro con sospecha de padecerla (convivientes). Se utilizó como control a un donante adulto sin patología intestinal.

Con la materia fecal de cada donante se preparó un barro fecal para inocular los medios de cultivo realizando una dilución 1/10 en el medio de cultivo base.

Los medios de cultivo fueron inoculados con los barros fecales en una dilución 1/10 e incubados a 37 °C en condiciones de anaerobiosis durante 24 y 48 h. En dichos tiempos, se tomaron alícuotas para la determinación de ácidos orgánicos producidos.

4. Cuantificación de productos de fermentación

Las alícuotas tomadas de los medios fermentados fueron centrifugadas y filtradas y se procedió a la identificación y cuantificación de ácidos grasos de cadena corta utilizando un cromatógrafo gaseoso (Agilent Technologies, Modelo 7890A, USA) asociado a una columna DBFATWAX UI. 30 m x 0,25 mm x 0,25 μm . Las condiciones operativas de las corridas fueron: Inlet 280 °C; Split 50:1, flow 1 ml/min; Oven rampa 120°C; 2 min 5 °C x min hasta 140 °C. Se utilizaron curvas de calibración conteniendo ácidos acético, propiónico y butírico en concentraciones 0, 5, 7,5 y 10 mM (Sigma Aldrich, USA). Asimismo, fueron sumadas al análisis las muestras de materia fecal de cada individuo.

Resultados

Se estudió la presencia de ácidos orgánicos en barros fecales mediante cromatografía gaseosa (CG). El contenido y cantidad de ácidos orgánicos en materia fecal inicial fue diferente en todos los individuos. La distribución de ácidos orgánicos presentes en la materia fecal (MF) de los 10 individuos se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: cantidad de ácidos orgánicos (mM) presentes en barros fecales provenientes de los individuos incluidos en el estudio. Las muestras correspondientes al individuo 4 fueron tomadas en diferentes períodos de tiempo (4a y 4b). Fuente: elaboración propia.

INDIVIDUO		Cantidad de ácidos en barros fecales (mM)		
		ACÉTICO	PROPIÓNICO	BUTÍRICO
SANO	1	23 ± 4	3,5 ± 1,1	0
SANO	2	11,8 ± 2,1	5 ± 1,2	7,5 ± 0,3
SANO	3	9,2 ± 1,5	0,5 ± 0	0
SANO	4a	9,12 ± 1,7	7,16 ± 1,2	5,61 ± 1,2
SANO	4b	6,4 ± 1,1	4,8 ± 0,8	0,5 ± 0,1
PÓLIPOS	5	9,8 ± 1,7	9,36 ± 2	12,58 ± 3
PÓLIPOS	6	13,5 ± 2,2	4,1 ± 1	5,54 ± 1,25
PÓLIPOS	7	12,2 ± 1,8	2,2 ± 0,4	1 ± 0,2
COLITIS ULCEROSA	8	15,2 ± 2	4,4 ± 0,8	5,2 ± 1,2
SOSPECHA DE CU	9	27,8 ± 4,1	5,02 ± 1,2	2,3 ± 0,8

Se puede observar que las muestras de materia fecal contienen diferente proporción de ácidos grasos de cadena corta, observándose que entre estas muestras el contenido de ácido acético fue mayoritario en todos los individuos respecto a los demás ácidos, seguido por el ácido propiónico. Con respecto al ácido butírico, fue llamativa su alta concentración en individuos con patologías intestinales. El incremento de este ácido en la materia fecal de pacientes con pólipos y adenocarcinoma de colon fue descripta por otros autores (Chen et al., 2021).

Por otro lado, cuando se realizaron las fermentaciones *in vitro*,

en el medio conteniendo glucosa, también se observaron diferencias en cuanto a la producción de ácidos orgánicos, particularmente, con el ácido butírico. Las mismas se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2: Concentraciones de ácido butírico en función del tiempo en los medios con glucosa inoculados con los barros fecales de los 10 individuos. n/d: no determinado. Fuente: elaboración propia.

Ácido butírico (mM)		
	24 h	48 h
Individuo 1	n/d	n/d
Individuo 2	0,38	0,93
Individuo 3	n/d	n/d
Individuo 4a	5,43 ± 1,1	7,95 ± 1,6
Individuo 4b	n/d	n/d
Individuo 5	3,96 ± 1,2	1,54 ± 0,9
Individuo 6	1,65 ± 1,1	1,65 ± 1,1
Individuo 7	0	1,77 ± 1,2
Individuo 8	2,46 ± 1,1	3,94 ± 1,8
Individuo 9	3,29 ± 1,3	4,27 ± 2,1

Producción de ácidos orgánicos en los medios conteniendo los polisacáridos

Así como la fermentación de los medios con glucosa generó diferentes perfiles de producción de ácidos orgánicos, pudo observarse también que la concentración de cada uno de los ácidos

no fue equivalente entre individuos para la fermentación de los polisacáridos, tal como se describe a continuación.

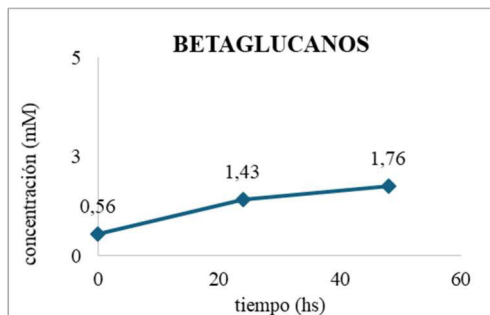
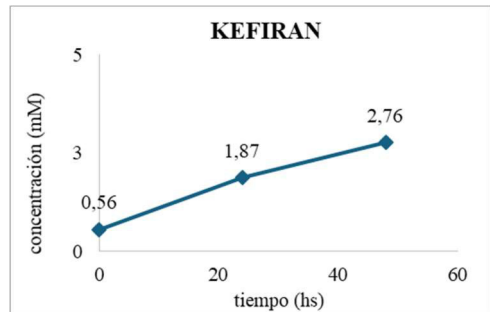
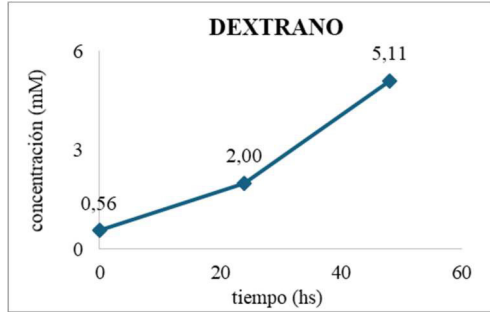
Se muestran los resultados correspondientes a los individuos 4 (sin patología) e individuos con patologías o sospecha de padecerla (individuos 5 a 9, excepto 7).

Individuo 4

Datos: Sexo femenino – edad 44 años – sin patología. Dieta omnívora. No consume probióticos –realiza actividad física moderada – fuma. Fecha de entrega de muestra: 5 de Septiembre de 2022. Fecha de análisis de muestra: 5 de Septiembre de 2022.

La microbiota presente en la materia fecal del individuo 4 produjo ácido butírico en todos los medios, tal como se mostró en la Tabla 2 y en la Figura 1. La mayor producción de ácido butírico se observó a las 48 h de fermentación, en el medio con dextrano (5,11 mM) en comparación con el medio con kefiran (2,76 mM) y betaglucanos (1,76 mM).

Figura 1: producción de ácido butírico en el tiempo por parte de la microbiota del individuo 4, en los diferentes medios conteniendo los distintos polisacáridos. Fuente: elaboración propia.

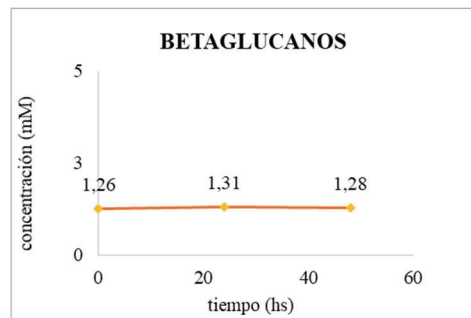
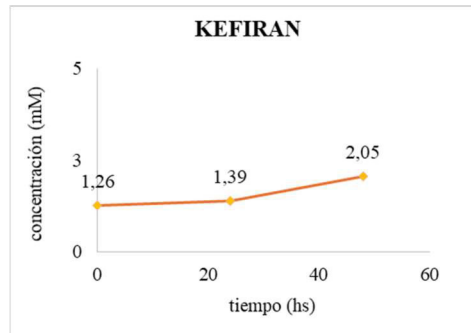
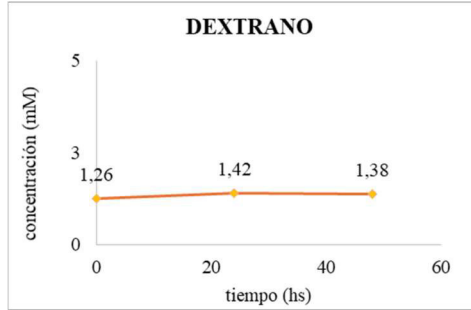


Individuo 5

Datos: Mujer – 41 años – diagnóstico: pólipos intestinales (extirpados). Dieta: vegana. Consume probióticos (no especifica cuales) – practica actividad física moderada – no fuma. Fecha de entrega de muestra: 5 de Septiembre de 2022. Fecha de análisis de muestra: 5 de Septiembre de 2022.

Cuando la materia fecal de este individuo fue inoculada en los medios conteniendo los distintos polisacáridos se encontró distinta cantidad de ácidos (Tabla 2 y Figura 2). En particular, en el caso del ácido butírico, se encontró que la microbiota de este individuo produjo poca cantidad, en comparación con el individuo sin patología (individuo 4). En los tres medios conteniendo los distintos polisacáridos, la producción fue similar, siendo levemente mayor en el medio conteniendo kefiran (2,05 mM). Esto podría relacionarse con la incapacidad de la microbiota de este individuo de fermentar estas fibras, probablemente como consecuencia de una pérdida de diversidad microbiana que podría deberse, o bien al antecedente de patología que presenta este individuo (Wu et al., 2018) o bien a la dieta (vegana), ya que se ha reportado cierta pérdida de diversidad en la microbiota intestinal de personas con este tipo de dieta (Trefflich, Dietrich, Braune, Abraham y Weikert, 2021). De acuerdo con la clasificación propuesta por algunos autores, este individuo podría clasificarse como “no respondedor” a ninguna de las tres fibras incluidas en este estudio (Kolodziejczyk et al., 2019).

Figura 2: producción de ácido butírico en el tiempo por parte de la microbiota del individuo 5, en los diferentes medios conteniendo los distintos polisacáridos. Fuente: elaboración propia.

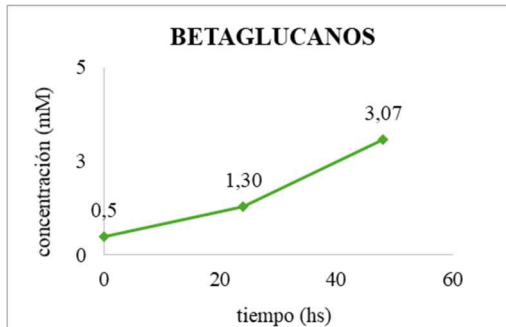
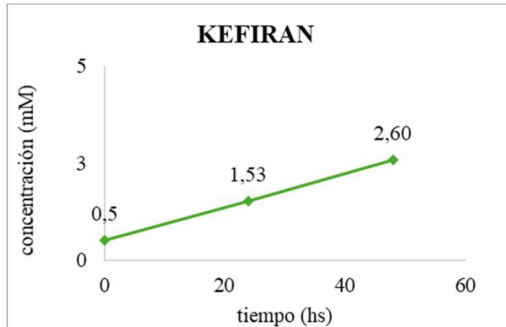
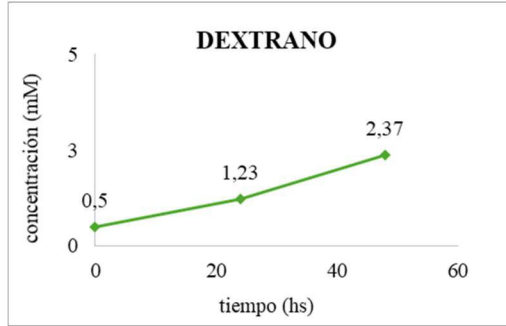


Individuo 6

Datos: Mujer – 55 años – diagnóstico: pólipos intestinales (extirpados). Dieta omnívora – consume probióticos (kefir de leche) – practica actividad física moderada – fuma. Fecha de entrega de muestra: Febrero de 2016 (congelada hasta su uso, en Agosto de 2022); muestra procesada según Aguirre et al. (2015).

Como se puede observar en la Tabla 2 y en la Figura 3, para el individuo 6, el ácido butírico se encontró en todos los medios luego de 48 horas de fermentación. El medio adicionado con betaglucanos presentó una concentración de este ácido (3,07 mM) levemente mayor, en comparación con los medios conteniendo dextrano (2,37 mM), y kefiran (2,60 mM). Por otro lado, esta cantidad es menor a la producida por la microbiota del individuo 4, sin patología (Figura 1). Nuevamente, al tener el individuo 6 un antecedente de patología intestinal, esta diferencia puede deberse a la disbiosis asociada (Wu et al., 2018). Sin embargo, de acuerdo con la tendencia observada, se puede proponer que, de las tres fibras, los betaglucanos serían los polisacáridos capaces de estimular la producción de butirato por parte de la microbiota de este individuo.

Figura 3: producción de ácido butírico en el tiempo por parte de la microbiota del individuo 6, en los diferentes medios conteniendo los distintos polisacáridos. Fuente: elaboración propia.



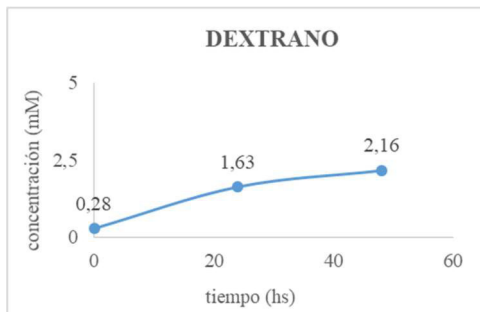
Individuo 8

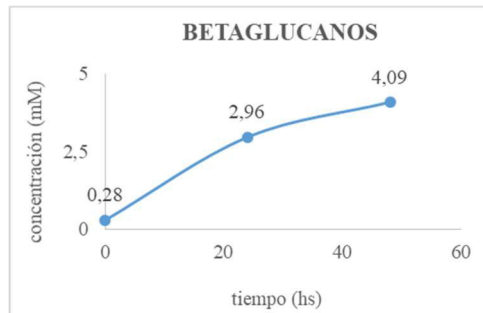
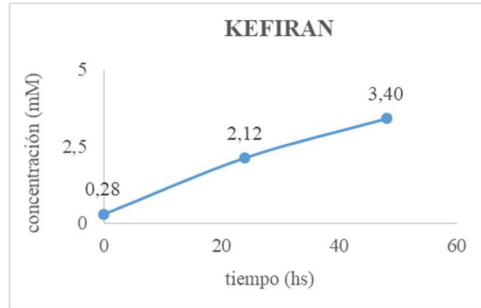
Datos: Masculino – 47 años – diagnóstico reciente de colitis ulcerosa – no consume probióticos – no fuma – actividad física moderada - dieta omnívora.

Fecha de entrega de muestra: 16 de Diciembre de 2022. Fecha de análisis de muestra: 16 de Diciembre de 2022.

Se observó la presencia de ácido butírico en todos los medios (Tabla 2 y Figura 4). La mayor concentración de ácido butírico se encontró en el medio conteniendo betaglucanos (4,09 mM), seguido por el medio con kefiran (3,4 mM). La menor concentración se encontró en el medio con dextrano (2,16 mM).

Figura 4: producción de ácido butírico en el tiempo por parte de la microbiota del individuo 8, en los diferentes medios conteniendo los distintos polisacáridos. Fuente: elaboración propia.



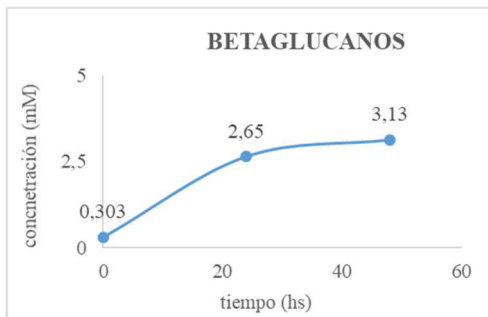
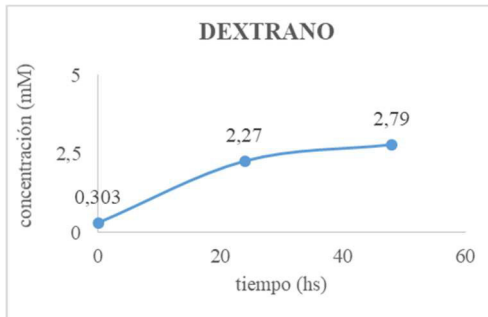
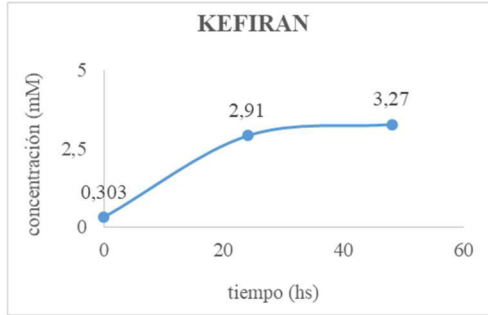


INDIVIDUO 9

Datos: Femenino – 45 años – sospecha de colitis ulcerosa (conviviente con individuo 8) – no fuma – no realiza actividad física – no consume probióticos – dieta omnívora.

En el caso del individuo 9, la mayor concentración de ácido butírico se encontró en el medio conteniendo kefiran (3,27 mM), seguido por el medio conteniendo betaglucanos (3,13 mM). La menor concentración se encontró en el medio con dextrano (2,79 mM).

Figura 5: producción de ácido butírico en el tiempo por parte de la microbiota del individuo 9, en los diferentes medios conteniendo los distintos polisacáridos. Fuente: elaboración propia.



Estas diferencias observadas en cuanto a la producción de ácido butírico, también se observaron en los perfiles de otros ácidos como el acético, propiónico y otros ramificados. En el caso particular del ácido acético en líneas generales, su producción fue elevada a las 24 h alcanzando valores cercanos a 20 mM en la mayoría de los individuos. En líneas generales, el ácido acético es el ácido que se produce primero, y luego gracias al *cross-feeding* se utiliza como sustrato para la síntesis de otros (Louis y Flint, 2017).

Con respecto a los ácidos grasos de cadena ramificada (AGCR o BCFA del inglés *Branched-Chain Fatty Acids*) encontramos gran variación en su producción entre los distintos individuos. Los AGCR son una clase de ácidos grasos, en su mayoría saturados con una o más ramas de metilo, generalmente ubicados cerca del grupo metilo terminal. Los aminoácidos valina, leucina e isoleucina, que resultan del fraccionamiento de las proteínas, pueden ser transformados por la microbiota intestinal en ácidos grasos ramificados (isobutírate, isovalerate y 2-metil butirato, respectivamente), los cuales representan aproximadamente un 5 % del total de ácidos grasos (AGCC y AGCR) en heces (Verbeke et al., 2015).

Hasta el momento no hay consenso en la comunidad científica sobre el papel de los AGCR producidos *in situ* en la salud intestinal ni sistémica. Por un lado, algunos autores consideran que su efecto es positivo, ya que se demostró que actúan como reguladores de la absorción colónica de sodio (Blachier, Mariotti, Huneau y Tomé, 2007) o tienen un efecto anticancerígeno (Ran-Ressler et al., 2011; Taormina, Unger, Schiksnis, Torres-González y Kraft,

2020), o que mejoran la sensibilidad a la insulina en individuos con metabolismo alterado (Heimann, Nyman, Pålbrink, Lindkvist-Petersson y Degerman, 2016). Por otro lado, dentro de los trabajos que consideran que los AGCR tienen un efecto negativo se pueden mencionar estudios *in vitro* que sugieren un efecto en la generación de úlceras (Sakurazawa y Ohkusa, 2005), otros donde se encontró que su incremento en materia fecal podría relacionarse con obesidad (Lange, Proczko-Stepaniak y Mika, 2023), hiperplasia prostática benigna (Ratajczak et al., 2021) o que son marcadores fecales de fermentación proteica asociados a la presencia de productos perjudiciales (Verbeke et al., 2015). En general, se reconoce que los AGCR en materia fecal se ven reducidos luego del consumo de prebióticos (Alles et al., 1997; Swanson et al., 2002; Mäkeläinen, Mäkivuokko, Salminen, Rautonen y Ouwehand, 2007; Rios-Covian et al., 2020; Marzorati, Ghyselinck, Van den Abbeele, Maruszak y Harthoorn, 2023); por el contrario, se incrementan luego de dietas ricas en proteínas (Aguirre et al., 2016). En ausencia de un consenso, las concentraciones fecales de AGCR se consideran sólo como marcadores de la fermentación de proteínas bacterianas en lugar de marcadores de la salud del colon (Kim, Coelho y Blachier, 2013; Verbeke et al., 2015). Se necesitan más estudios para comprender la relación existente entre la presencia de estos AGCR y la salud del hospedador, así como identificar las poblaciones bacterianas responsables de su síntesis (Rios-Covian et al., 2020). Cabe mencionar que, para nuestro conocimiento, no existe reporte de producción de ácidos ramificados en ensayos *in vitro* con estos prebióticos.

A partir de dos polisacáridos producidos por dos cepas de *Lactobacillus paracasei* CIDCA 8339 y CIDCA 83124 aisladas de gránulos de kefir de leche (Hamet et al., 2013), Bengoa et al. (2020) evaluaron la producción de AGCR utilizando *pools* de materia fecal de niños. Encontraron un incremento en la producción de ácidos isobutírico e isovalérico en los medios conteniendo estos polímeros luego de 24 h de fermentación.

De acuerdo con el análisis de resultados obtenidos en el ensayo de fermentación, puede observarse que las mayores concentraciones de cada uno de los ácidos en cada individuo se alcanzaron frente a la fermentación de diferentes polisacáridos. Estos resultados permitirían proponer el consumo de un polisacárido diferente para cada individuo. Para el caso del ácido butírico, esto se resume en la Tabla 3.

Tabla 3: Polisacáridos que indujeron la mayor producción de ácido butírico para cada individuo estudiado. Fuente: elaboración propia.

Individuo	Polisacárido
4	dextrano
5	kefiran
6	betaglucanos
8	betaglucanos
9	kefiran

De este modo, se comprobó que la respuesta de la microbiota proveniente de materia fecal de distintos individuos no siempre responde de la misma manera. Esto está en concordancia con lo encontrado previamente en el grupo de trabajo (Hamet et al., 2016; Medrano et al., 2020). Gracias a estos resultados, se puede

apreciar la importancia y la presencia de una variabilidad interindividual en la capacidad de fermentación de distintas fuentes de carbono. Esto quiere decir que un mismo polisacárido puede generar distintos tipos de respuesta en la microbiota de cada uno de los individuos que la consuman.

De modo interesante, se encontró que estos polisacáridos fueron capaces de incrementar la producción de ácido butírico en los individuos, indicando que es posible inducir la producción de este ácido, si se ingiere la fibra adecuada (Zhang et al., 2021). Estos resultados permiten aportar y confirmar la evidencia científica que se encuentra postulada por diversos autores sobre la fermentabilidad y la acción prebiótica de los polisacáridos en estudio.

Para los betaglucanos, se pudo observar por parte de la microbiota una respuesta positiva en 3 de los cinco individuos incluidos en el presente trabajo, en cuanto a la producción de butirato. La fermentación *in vitro* de betaglucanos de levaduras ha sido poco explorada hasta el momento. Chaikliang et al. (2015) demostraron la actividad prebiótica de estos polisacáridos en cuanto al incremento de poblaciones de bifidobacterias utilizando un modelo de fermentación *in vitro* con inóculo de materia fecal humana.

En el caso del kefiran, de modo interesante, indujo un leve incremento en la producción de ácido butírico cuando los medios fueron fermentados por microbiota del individuo con antecedentes de pólipos (individuo 5). Si bien son necesarios más estudios que incluyan un análisis del microbioma para

confirmarlo, lo hallado indicaría que podría postularse al kefirán como una fibra que potencialmente podría mejorar o revertir el estado de disbiosis de algunos individuos. La fermentabilidad del kefirán por parte de microbiota intestinal humana proveniente de niños sanos con dieta omnívora fue demostrada en el Capítulo 3.

Con respecto al dextrano, se pudo observar que es un polisacárido fermentable por bacterias intestinales. De modo interesante, únicamente las bacterias presentes en la materia fecal del individuo sin patología (individuo 4) fueron capaces de producir mayor cantidad de ácido butírico utilizando este polisacárido como fuente fermentable. Esto podría indicar que este polisacárido complejo, con alto peso molecular e insoluble, podría ser utilizado por microorganismos presentes en ecosistemas cuya diversidad no se encuentre alterada (eubiosis), aunque son necesarios más estudios para confirmarlo. Un estudio reciente efectuado por Tan et al. (2022), demostró la capacidad de los polisacáridos sintetizados por una cepa de *Liquorilactobacillus satsumensis* aislada de gránulo de kefir de agua, de inducir el crecimiento de bacterias intestinales productoras de ácidos orgánicos.

Los resultados presentados en este trabajo demuestran la variabilidad intra e interindividual en la fermentabilidad de distintas fibras dietarias no digeribles siendo una más favorable que otra en cuanto a la producción de ácidos orgánicos para cada individuo, especialmente, en la producción de butirato. De esta manera, estos resultados refuerzan aún más el potencial de las intervenciones dietarias personalizadas.

Conclusión

Se encontró que, en los medios fermentados, las bacterias intestinales de todas muestras provenientes de todos los individuos produjeron ácidos orgánicos, presentando diferentes perfiles de producción, lo cual evidencia la variación en la respuesta de la microbiota inter-individuo frente a la administración de diferentes fibras. Estos resultados refuerzan el concepto de la respuesta individual de la microbiota, indicando que no todas las fuentes de fibra tienen el mismo efecto en la producción de metabolitos por parte de la microbiota intestinal. Por otro lado, demostramos que los dos polisacáridos provenientes de gránulos de kéfir, de leche y de agua, tienen un efecto diferente en cuanto a su fermentabilidad por parte de bacterias intestinales. Nuestros resultados contribuyen al conocimiento del efecto benéfico para la salud que tienen ambos productos fermentados.

En el presente trabajo se demostró que a partir de subproductos de la industria alimentaria o de biomasa sub-aprovechada proveniente de gránulos de kefir de leche y de agua, así como de paredes de levaduras cerveceras, se pueden aislar polisacáridos, con un grado de pureza aceptable, utilizando protocolos sencillos y amigables con el ambiente. Se demostró que estos polisacáridos pueden ser utilizados como fuente de carbohidratos por bacterias presentes en materia fecal de individuos con diferentes patologías, así como en la de un individuo sin patología.

Se comprobó al mismo tiempo que la respuesta de la microbiota frente a la administración de una misma fuente de fibra puede ser

diferente entre individuos. Asimismo, la respuesta de la microbiota intestinal está ligada a las características fisicoquímicas de los polisacáridos administrados, por lo que sería esperable que la administración de distintas fibras, pueda llegar a brindar respuestas diferenciales siendo una más favorable que otra en cuanto a la producción de ácidos orgánicos, especialmente, de butirato, reforzando el potencial de las intervenciones dietarias personalizadas.

Los resultados obtenidos constituyen un aporte a la aplicación de biopolímeros obtenidos de fuentes naturales para ser incorporados en alimentos funcionales con un beneficio en la salud del consumidor.

Agradecimientos y créditos

Se agradece a todas las personas que donaron sus muestras para la realización de estos ensayos. Los resultados que se muestran en este capítulo corresponden a ensayos realizados en el marco de becas de entrenamiento de los egresados de la carrera de Bioquímica ICS UNAJ: Martin Reymar (beca CIN 2022) y Natalia Moreira (beca BIEI UNAJ 2023).

Capítulo 5

Prebióticos: efectos dependientes de la microbiota individual

Micaela Medrano^{1,2}, *María Fernanda Hamet*^{1,2}

Una de las correlaciones generales que se establecen entre el consumo de fibra prebiótica y la mejora de la salud, es la producción de ácidos grasos de cadena corta por parte de las bacterias intestinales, y en particular de butirato (Scott et al., 2014; Shimi, 2023). Sin embargo, dicho incremento en la producción de butirato está íntimamente relacionado con la composición de la microbiota intestinal residente del consumidor, en particular con la representación de géneros bacterianos productores de este ácido orgánico (Zhang, Li, Yang, Tan y Liu, 2022; Medrano et al., 2020). Teniendo en cuenta que la composición de la microbiota intestinal no se repite entre individuos de una misma especie (Kolodziejczyk et al., 2019), es de esperar que la microbiota de todos los individuos no responda del mismo modo al consumo de

¹ Laboratorio de Alimentos, Salud y Microbiota (LASYM), Instituto Ciencias de la Salud, UNAJ.

² Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CIDCA) (CONICET-UNLP-CIC).

una misma fibra en cuanto a la producción de butirato (Tannock y Liu, 2020).

El objetivo de este capítulo es relevar la evidencia científica que sustenta la tendencia de que el efecto de las fibras es “personalizado” y de que no hay una única fibra que es buena para todos, sino de que el consumo de las mismas debería proponerse de manera personalizada. La posibilidad del uso de *blends* (Tannock, 2021) de fibras como una alternativa que cubre las necesidades de la mayoría de los individuos es una alternativa a considerar, si bien hacen falta estudios que demuestren el efecto sinérgico de las fibras.

Los estados de eubiosis y de disbiosis han sido discutidos en capítulos previos, así como la estrecha relación que existe entre disbiosis, patologías intestinales de origen inflamatorio, la disminución de poblaciones productoras de butirato (Chen y Vitetta, 2018). Enfermedades gastrointestinales crónicas, como el síndrome del intestino irritable, la celiaquía y el cáncer colorrectal, también se han correlacionado con estados de disbiosis, habiéndose descrito cambios en la composición de la microbiota en los individuos enfermos en comparación con individuos sanos, en las tres patologías (Carroll, Chang, Park, Sartor y Ringel, 2010; De Palma et al., 2010; Shen et al., 2010).

Como se mencionó, y en líneas generales, la producción de butirato por parte de la microbiota intestinal se relaciona con la ingesta de polisacáridos no digeribles de alto y mediano peso molecular (Louis y Flint 2017; Zhang et al., 2022; Medrano et al., 2020) y hay una tendencia últimamente a la búsqueda de

alimentos que favorezcan la producción de butirato. Por ejemplo, Zhang et al. (2022) hicieron un relevamiento de polisacáridos presentes en alimentos (galactomananos, glucanos, glucomananos, arabinosilanos, inulina, pectina, almidón resistente) y en dicho trabajo proponen qué alimentos con sus polisacáridos son fermentados y cuáles especies productoras de butirato estarían involucradas (Zhang et al., 2022).

Al mismo tiempo, se han hecho esfuerzos para identificar tanto los sustratos como cepas de microorganismos hiper productores de butirato (Chen et al., 2020). Tal es la relevancia que han adquirido estos microorganismos productores de butirato, que comienzan a considerarse como nuevos probióticos (*novel probiotics*) o probióticos de nueva generación (Van Immerseel et al., 2010; Boesmans et al., 2018; Perraudeau et al., 2020; Khan et al., 2023).

Variabilidad de individuos, variabilidad de respuesta

Tal como se viene mencionando, la estimulación selectiva de poblaciones bacterianas depende de la composición química de la fibra (Gibson et al., 2017); concomitantemente, la microbiota individual determina la capacidad de fermentar fibras dando respuestas diferenciales con variación inter-individuos (Hamet et al., 2016; Medrano et al., 2020). Por lo tanto, una misma fibra puede tener diferente respuesta en diferentes individuos que la consuman; así como para un mismo individuo, se puede seleccionar *in vitro* la fibra fermentable capaz de inducir un incremento en la producción de butirato, para intentar revertir una enfermedad inflamatoria. Este capítulo se orienta en explorar

esta nueva corriente de investigaciones que proponen “intervenciones dietarias personalizadas” (Chen y Vitetta, 2018; Singh et al., 2021).

Dentro de los polisacáridos con actividad prebiótica que encontramos en la naturaleza y que se encuentran entre los alimentos que consumimos, se presenta gran variabilidad (Ruas-Madiedo, Abraham, Mozzi y de Los Reyes-Gavilán, 2008). Esta diversidad de polisacáridos está relacionada con las uniones que forman parte de las uniones glicosídicas que forman parte de la cadena principal de cada polímero, la presencia de ramificaciones o no, el peso molecular, la solubilidad, la carga, etc. Todas estas características fisicoquímicas van a determinar que estos polisacáridos puedan o no ser digeridos por las enzimas presentes en el tracto gastrointestinal, y que puedan o no ser fermentados por los microorganismos benéficos que habitan en nuestro intestino grueso: se puede denominar como prebiótico si es sustrato para las bacterias intestinales benéficas y si confiere un efecto demostrado en la salud del consumidor.

Esta respuesta está fuertemente determinada por la heterogeneidad de la microbiota individual más que por el sustrato prebiótico ingerido, por lo tanto, se han comenzado a proponer suplementaciones dietarias de precisión que consideran la respuesta de la microbiota intestinal de cada individuo. Los trabajos que proponen estas intervenciones dietarias personalizadas han comenzado a incrementarse en los últimos años.

Los estudios que comenzaron a reconocer la variabilidad inter-individual han adquirido relevancia cuando un grupo de investigación encontró en un experimento con animales que un prebiótico reconocido como es la inulina, no tuvo el efecto benéfico deseado en ciertos animales usados en la experimentación. Los autores concluyeron con sorpresa que una fibra que es buena para algunos individuos no necesariamente es buena para todos (Singh et al., 2018). A partir de allí, se comenzó a reconocer que debido a que tanto la genética del hospedador como su microbiota intestinal pueden influenciar el éxito de un tratamiento, existe una urgente necesidad de desarrollar una medicina de precisión y de personalizar las suplementaciones dietarias, basadas en el microbioma individual (Wan y Jena, 2019).

En la Tabla 1 se enumeran diversos trabajos científicos en los que los autores reconocen que el efecto de un polisacárido con potencial prebiótico no es necesariamente generalizable a toda la población. Los avances en la investigación biomédica y en el estudio de la microbiota intestinal han permitido establecer que no existe una única dieta que resulte beneficiosa para todos los individuos. Las variaciones interindividuales en la respuesta a las intervenciones dietarias están estrechamente relacionadas con la composición específica y única de la microbiota de cada persona. En este sentido, se comenzó a afirmar que la dieta modifica la composición del microbioma y funciona de un modo específico para cada persona, y se comenzaron a habilitar las estrategias nutricionales personalizadas (Kolodziejczyk et al., 2019).

Tabla 1: Trabajos científicos (ordenados por año) en los cuales se demostró (en *Trials* en humanos, o en modelos animales *in vivo*) la respuesta diferencial de la microbiota frente a diferentes estímulos de prebióticos. GOS: galacto-oligosacáridos; RS: almidón resistente; non-RS: almidón no resistente; FOS: fructo-oligosacáridos; XOS: xilo-oligosacáridos; AGCC: ácidos grasos de cadena corta. Adaptado de Simonelli, Abraham y Medrano (2024).

Año	Resultados relevantes	Referencia
2010	El consumo de GOS incrementó el número de Bifidobacterias en heces, pero solamente en individuos “respondedores” (50%). Modelo: <i>Trial</i> en humanos, n=18.	Davis et al., 2010
2010	Poblaciones bacterianas específicas fueron incrementadas por carbohidratos funcionales específicamente diseñados (RS2 y RS4). Se encontraron variaciones inter-individuales que refuerzan el abordaje personalizado de la estimulación de la microbiota. Modelo: <i>Trial</i> en humanos, n=10.	Martínez et al., 2010
2011	Los niveles de butirato encontrados en materia fecal luego del consumo de RS presentaron variaciones entre individuos. Modelo: <i>Trial</i> en humanos, n=46.	McOrist et al., 2011
2013	Luego de consumir dietas ricas en fibra y proteínas, se encontró que la eficacia de las intervenciones dietarias fue específica para cada persona; los autores concluyeron que la respuesta puede predecirse de acuerdo con la riqueza genética de la microbiota intestinal. Modelo: <i>Trial</i> en humanos, n=48.	Cotillard et al., 2013
2014	Luego de consumir alimentos con alto contenido de fibra (harinas integrales, inulina, RS) se encontró que el impacto de la dieta sobre la microbiota y el metabolismo del hospedador es de carácter individual y	Korpela et al., 2014

	<p>depende de la composición de la microbiota y de los cambios metabólicos en el hospedador. Modelo: <i>Trial</i> en humanos, n=78.</p>	
2014	<p>La respuesta frente al consumo de RS de la microbiota individual presentó variaciones, y se correlacionó inversamente con la diversidad. Los individuos pueden clasificarse como “respondedores” y “no-respondedores” de acuerdo con las funciones de su microbiota intestinal. Modelo: <i>Trial</i> en humanos, n=14.</p>	Salonen et al., 2014
2015	<p>Luego de consumir un alimento con fibra, los individuos incluidos en el estudio respondieron diferente a esta intervención dietética. La relación <i>Prevotella/Bacteroides</i> fue mayor en los individuos “respondedores”. Modelo: <i>Trial</i> en humanos, n=39.</p>	Kovatcheva-Datchary et al., 2015
2016	<p>Los autores observaron una respuesta heterogénea en la concentración de butirato después de la suplementación con RS2. Modelo: <i>Trial</i> en humanos, n=20.</p>	Venkataraman et al., 2016
2017	<p>Respuesta diferencial entre enterotipos <i>Prevotella</i> y <i>Bacteroides</i> para la fermentación de FOS y arabinoxylanos de sorgo y maíz. Modelo: <i>in vitro</i>, n=2.</p>	Chen et al., 2017
2018	<p>La administración de un prebiótico reconocido como es la inulina no tuvo el efecto beneficioso deseado en ciertos animales, que desarrollaron cáncer de hígado; los autores concluyeron que una fibra que es beneficiosa para algunos individuos no es necesariamente buena para todos. Modelo: <i>in vivo</i> (murino), n=15.</p>	Singh et al., 2018
2018	<p>La producción de AGCC <i>in vitro</i> demostró ser individual, mostrando perfiles únicos de AGCC en cada muestra y que difieren según el sustrato (inulina, betaglucanos, FOS, XOS). Modelo: <i>in vitro</i> (Sistema continuo PolyFermS), n=2.</p>	Poeker et al., 2018
2020	<p>Los ratones colonizados con la microbiota fecal de diferentes individuos obesos respondieron de forma</p>	Rodriguez et al., 2020

	<p>diferenciada a la suplementación con inulina. Los autores concluyeron que caracterizar la microbiota intestinal antes de la intervención dietaria con prebióticos es importante para mejorar el resultado positivo.</p> <p>Modelo: <i>in vivo</i> (ratones C57BL/6J obesos).</p>	
2020	<p>La ingesta de RS4 de tapioca y maíz indujo efectos divergentes y específicos en la composición del microbioma en cuanto a la producción de propionato o butirato.</p> <p>Modelo: <i>Trial</i> en humanos; n=10 por grupo.</p>	Deehan et al., 2020
2020	<p>El consumo de arabinosilanos provenientes de salvado de maíz cambió la composición de la comunidad bacteriana fecal y promovió el desarrollo de <i>Bifidobacterium longum</i>, <i>Blautia obeum</i> y <i>Prevotella copri</i> al tiempo que aumentó las concentraciones de propionato fecal.</p> <p>Modelo: <i>Trial</i> en humanos con sobrepeso; n=31.</p>	Nguyen et al., 2020
2020	<p>Se inocularon medios conteniendo el glucogalactano kefirán con materia fecal de 10 niños sanos. La producción de butirato no fue equivalente en los 10 individuos incluidos en el estudio.</p> <p>Modelo: <i>in vitro</i>, n=10.</p>	Medrano et al., 2020
2021	<p>Luego de consumir inulina y pectina, se observó la producción de diferentes cantidades y proporciones de AGCC a partir de los mismos sustratos por parte de los diferentes individuos. Los autores también demostraron que los fenotipos metabólicos microbianos pueden predecirse.</p> <p>Modelo: <i>Trial</i> en humanos saludables; n= 33.</p>	Gurry et al., 2021
2021	<p>Los autores demostraron que la composición de la microbiota es decisiva para la producción de butirato frente a la fermentación de RS.</p> <p>Modelo: <i>in vitro</i>; n=10.</p>	Teichman n y Cockburn, 2021
2022	<p>Los autores encontraron que la identidad individual de la microbiota es el principal determinante de la respuesta para la producción de AGCC, antes que la</p>	Holmes et al., 2022

	<p>identidad de la fibra. Concluyeron que es posible que las terapias prebióticas requieran una personalización.</p> <p>Fibras: Inulina, GOS, Dextrina.</p> <p>Modelo: <i>Clinical trial</i>; n=28.</p>	
2023	<p>Los autores propusieron un modelo basado en inteligencia artificial para optimizar las características saludables de las dietas y promover un ecosistema microbiano favorable mediante el seguimiento de la ingesta de alimentos y nutrientes, sumado al monitoreo de parámetros antropométricos, fisiológicos y el estudio de la composición del microbioma intestinal después de la implementación de la intervención dietética personalizada.</p> <p>Modelo: <i>Clinical trial</i>; n=7.</p>	Bianchetti et al., 2023
2024	<p>Los autores demostraron que el impacto de las fibras en la composición de la microbiota intestinal humana <i>ex vivo</i> depende de la composición de la microbiota de los donantes.</p> <p>Modelo: <i>ex vivo</i>; n=6.</p>	Bonazzi et al., 2024

Conclusión

Dado que tanto la genética del hospedador como su microbioma pueden influenciar el éxito o el fracaso de un tratamiento, se plantea como una posibilidad el desarrollo de intervenciones alimentarias basadas en la respuesta de la microbiota individual. El estudio de dicha respuesta es relevante al momento de poder intervenir de manera responsable en la dieta de las personas, sobre todo en los casos donde se encuentra con una disbiosis de base. Esto aplica no solo a las intervenciones con prebióticos, sino también a la recomendación de consumo de otros alimentos funcionales (probióticos, sinbióticos, otros).

Conclusiones Generales

En esta obra se presentaron los principales resultados obtenidos de proyectos de investigación radicados en UNAJ que comprenden tanto trabajo en el territorio, como en el laboratorio y en búsqueda bibliográfica. Este trabajo fue desarrollado por la comunidad de docentes, estudiantes, egresadxs de la UNAJ, así como por investigadorxs de otras casas de estudio que han contribuido a la conformación de este grupo de trabajo.

En la Introducción y en el Capítulo 1 mostramos que hay un interés creciente en la población a temas relacionados con la alimentación y la salud, donde la microbiota intestinal tiene un rol conector, ya que gran parte de los alimentos que no podemos digerir (fibra) sirve como sustrato para el desarrollo de poblaciones bacterianas benéficas, que producirán metabolitos con impacto en nuestra salud, como son los ácidos grasos de cadena corta y en particular, el butirato.

La microbiota intestinal constituye un ecosistema que no se repite entre individuos de una misma especie, ya que dicho ecosistema es producto de la sumatoria de eventos en el desarrollo de un individuo, así como de sus costumbres, hábitos, estilo de vida, alimentación, entre otros factores. Al ser la microbiota intestinal un ecosistema que no se repite, es razonable que la microbiota de diferentes personas responda de manera diferente frente a un

mismo estímulo dietario. Esto fue abordado en el Capítulo 2 de manera teórica, y demostrado en los Capítulos 3 y 4.

Otra consecuencia de la complejidad de este ecosistema es que, para un mismo individuo, se puede encontrar una fibra que sea más efectiva en cuanto a la producción de butirato que otra. Estos estudios pueden realizarse *in vitro* y permitirían predecir la respuesta que darían las poblaciones bacterianas presentes en el colon de una persona frente a la ingesta de una determinada fibra. Esto fue abordado en los Capítulos 4 y 5.

Retomando la hipótesis de trabajo “la fibra dietaria tiene un impacto en la composición de la microbiota intestinal, y que este efecto depende de la composición basal (inicial) de dicha microbiota”, luego del recorrido realizado a lo largo de los capítulos, podemos afirmar que los resultados alcanzados respaldan la hipótesis formulada en la introducción, lo que permite aceptarla como válida dentro del marco de este estudio.

Los resultados presentados constituyen un aporte al conocimiento que tenemos hasta el momento en nuestros grupos de trabajo con respecto al estímulo dietario (a través de oligo y polisacáridos) en cuanto a la producción de metabolitos de interés por parte del ecosistema microbiano. El estudio de las poblaciones que se ven favorecidas frente a dicho estímulo dietario constituye un aspecto relevante y pendiente que esperamos abordar en próximas etapas.

Sin embargo, consideramos que el recorrido transitado merece ser relatado, reconociendo de este modo a todas las personas

involucradas, desde investigadores y estudiantes, pero sobre todo, los individuos que donaron sus muestras para realizar estos estudios. Esperamos con este trabajo realizar un aporte a la comunidad científica y no-científica, habiendo relatado los avances del grupo de trabajo en el tema, e invitando a quienes hayan leído nuestro trabajo a seguir interesándose por este ecosistema del que somos parte.

Bibliografía

Abraham, A. G., Medrano, M., Piermaria, J. A., y Mozzi, F. (2010). Novel applications of polysaccharides from lactic acid bacteria: A focus on kefiran. Chapter 10 En: Clarence S. Hollingworth (Ed.), *Food Hydrocolloids: Characteristics, Properties and Structures*. pp. 253-272. New York, Nova Publishers, Inc.

Aguirre, M., Eck, A., Koenen, M. E., Savelkoul, P. H., Budding, A. E, y Venema, K. (2015). Evaluation of an optimal preparation of human standardized fecal inocula for *in vitro* fermentation studies. *Journal of Microbiological Methods*, 117, pp. 78-84.

Aguirre, M., Eck, A., Koenen, M. E., Savelkoul, P. H., Budding, A. E, y Venema, K. (2016). Diet drives quick changes in the metabolic activity and composition of human gut microbiota in a validated *in vitro* gut model. *Research in Microbiology*, 167, N°2, pp. 114-125.

Aguirre, M., Ramiro-Garcia, J., Koenen, M. E., y Venema, K. (2014). To pool or not to pool? Impact of the use of individual and pooled fecal samples for *in vitro* fermentation studies. *Journal of Microbiological Methods*, 107, pp. 1-7.

Aguirre, P. (2019). Alimentos funcionales entre las nuevas y viejas corporalidades. *AIBR: Revista de Antropología Iberoamericana*, 14(1), pp. 95-120.

Alles, M. S., Katan, M. B., Salemans, J. M., Van Laere, K. M., Gerichhausen, M. J., Rozendaal, M. J., y Nagengast, F. M. (1997). Bacterial fermentation of fructooligosaccharides and resistant starch in patients with an ileal pouch-anal anastomosis. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 66 (5), pp. 1286-1292.

Al-Tamimi, M., Palframan, R., Cooper, J. M., Gibson, G. y Rastall, R. (2006). *In vitro* fermentation of sugar beet arabinan and arabino-oligosaccharides by the human gut microflora. *Journal of Applied Microbiology*, 100, pp. 407-414.

Ansari, F., Lee, C. C., Rashidimehr, A., Eskandari, S., Joshua Ashaolu, T., Mirzakhani, E., Pourjafar, H. y Jafari, S. M. (2024). The Role of Probiotics in Improving Food Safety: Inactivation of Pathogens and Biological Toxins. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 25 (8), pp. 962-980.

Arumugam, M., Raes, J., Pelletier, E., Le Paslier, D., Yamada, T., Mende, D. R., et al. (2011). Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*, 473(7346), pp.174-180.

Barker, R., Abrahamsson, B., y Kruusmägi, M. (2014). Application and validation of an advanced gastrointestinal in vitro model for the evaluation of drug product performance in pharmaceutical development. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103 (11), pp. 3704-3712.

Barros, C. P., Guimarães, J. T., Esmerino, E. A., Duarte, M. C. K., Silva, M. C., Silva, R. y Cruz, A. G. (2020). Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products. *Current Opinion in Food Science*, pp. 32, 1-8.

Bartsch, M., Hahn, A. y Berkemeyer, S. (2023). Bridging the Gap from Enterotypes to Personalized Dietary Recommendations: A Metabolomics Perspective on Microbiome Research. *Metabolites*, 13, pp. 1182.

Bassis, C. M., Moore, N. M., Lolans, K., Seekatz, A. M., Weinstein, R. A., Young, V. B., y Hayden MF for CDC Prevention Epicenters Program. (2017). Comparison of stool versus rectal swab samples and storage conditions on bacterial community profiles. *BMC microbiology*, 17, pp. 1-7.

Bäumler, A. J., y Sperandio, V. (2016). Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature*, 535 (7610), pp. 85-93.

Bengoa, A. A., Dardis, C., Gagliarini, N., Garrote, G. L., y Abraham, A. G. (2020). Exopolysaccharides from *Lactobacillus paracasei* isolated from kefir as potential bioactive compounds for microbiota modulation. *Frontiers in microbiology*, 11, 583254.

Bergmann, H., Rodríguez, J. M., Salminen, S., y Szajewska, H. (2014). Probiotics in human milk and probiotic supplementation in infant nutrition: a workshop report. *British Journal of Nutrition*, 112 (7), pp. 1119-1128.

Bianchetti, G., De Maio, F., Abeltino, A., Serantoni, C., Riente, A., Santarelli, G. et al. (2023). Unraveling the Gut Microbiome–Diet Connection: Exploring the Impact of Digital Precision and Personalized Nutrition on Microbiota Composition and Host Physiology. *Nutrients*. 15 (18), 3931.

Blachier, F., Mariotti, F., Huneau, J. F., y Tomé, D. (2007). Effects of amino acid-derived luminal metabolites on the colonic epithelium and physiopathological consequences. *Aminoacids*, 33, pp. 547-562.

Boesmans, L., Valles-Colomer, M., Wang, J., Eeckhaut, V., Falony, G., Ducatelle, R. et al. (2018). Butyrate producers as potential next-generation probiotics: safety assessment of the administration of *Butyricoccus pullicaecorum* to healthy volunteers. *Msystems*, 3 (6), 10-1128.

Bonazzi, E., Bretin, A., Vigué, L., Hao, F., Patterson, A. D., Gewirtz, A. T., Chassaing, B. (2024). Individualized microbiotas dictate the impact of dietary fiber on colitis sensitivity. *Microbiome*. 12 (1), pp.1-14.

Botteri, E., Borroni, E., Sloan, E. K., Bagnardi, V., Bosetti, C., Peveri, G., Santucci, C., Specchia, C., van der Brandt, P., Gallus, S. y Lugo, A. (2020). Smoking and colorectal cancer risk, overall and by molecular subtypes: a meta-analysis. *Official journal of the American College of Gastroenterology, ACG*, 115 (12), pp. 1940-1949.

- Buddington, K. K., Donahoo, J. B. y Buddington, R. K. (2002). Dietary oligofructose and inulin protect mice from enteric and systemic pathogens and tumor inducers. *Journal of Nutrition*, 132, pp. 472–477.
- Caggianiello, G., Kleerebezem, M., y Spano, G. (2016). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100 (9), pp. 3877-3886.
- Cantu-Jungles, T. M., Cipriani, T. R., Iacomini, M., Hamaker, B. R. y Cordeiro, L. M. (2017). A pectic polysaccharide from peach palm fruits (*Bactris gasipaes*) and its fermentation profile by the human gut microbiota *in vitro*. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 9, pp. 1-6.
- Carding, S., Verbeke, K., Vipond, D. T., Corfe, B M y Owen, L J (2015). Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26 (1), 26191.
- Carroll, I. M., Chang, Y. H., Park, J., Sartor, R. B., y Ringel, Y. (2010). Luminal and mucosal-associated intestinal microbiota in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Gut Pathogens*, 2, 19.
- Chaikliang, C., Wichienchot, S., Youravoug, W. y Potchanapond, G. (2015) Evaluation on prebiotic properties of B-glucan and oligo-B-glucan from mushrooms by human faecal microbiota in fecal batch culture. *Functional Foods in Health and Disease*, 5 (11), pp. 395-405.

Chapkin, R. S., Navarro, S. L., Hullar, M. A. y Lampe, J. W. (2020). Diet and gut microbes act coordinately to enhance programmed cell death and reduce colorectal cancer risk. *Digestive Diseases and Sciences*, 65, pp. 840-851.

Chauhan, J. y Sharma, R. K. (2023). Synbiotic formulations with microbial biofilm, animal derived (casein, collagen, chitosan) and plant derived (starch, cellulose, alginate) prebiotic polymers. *International Journal of Biological Macromolecules*, 1,248, 125873.

Chen, C., Niu, M., Pan, J., Du, N., Liu, S., Li, H., He, Q., Mao, J., Duan, Y. y Du, Y. (2021). Bacteroides, butyric acid and t10, c12-CLA changes in colorectal adenomatous polyp patients. *Gut Pathogens*, 13, pp. 1-9.

Chen, D., Jin, D., Huang, S., Wu, J., Xu, M., Liu, T., Dong, W., Liu, X., Wang, S., Zhong, W., Liu, Y., Jiang, R., Piao, M., Wang, B. y Cao, H. (2020). *Clostridium butyricum*, a butyrate-producing probiotic, inhibits intestinal tumor development through modulating Wnt signaling and gut microbiota. *Cancer Letters*, 469, pp. 456-467.

Chen, J. y Vitetta, L. (2018). Inflammation-modulating effect of butyrate in the prevention of colon cancer by dietary fiber. *Clinical Colorectal Cancer*, 17(3), pp. 541-544.

Chen, T., Long, W., Zhang, C., Liu, S., Zhao, L., Hamaker, B. R. (2017). Fiber-utilizing capacity varies in *Prevotella* versus *Bacteroides*-dominated gut microbiota. *Scientific Report*. 7, 2594.

Choo, J. M., Leong, L. E., y Rogers, G. B. (2015). Sample storage conditions significantly influence faecal microbiome profiles. *Scientific Reports*, 5 (1), 16350.

Cinquin, C., Le Blay, G., Fliss, I., y Lacroix, C. (2004). Immobilization of infant fecal microbiota and utilization in an *in vitro* colonic fermentation model. *Microbial Ecology*, 48, pp. 128-138.

Código Alimentario Argentino: Código Alimentario Argentino | Argentina.gob.ar

Collado, M. C., Rautava, S., Aakko, J., Isolauri, E. y Salminen, S. (2016). Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Scientific Reports*, 6, 23129.

Corrêa-Oliveira, R., Fachi, J. L., Vieira, A., Sato, F. T. y Vinolo, M. A. R. (2016) Regulation of immune cell function by short-chain fatty acids. *Clinical & Translational Immunology*, 5, 73.

Cotillard, A., Kennedy, S. P., Kong, L. C., Prifti, E., Pons, N., Le Chatelier, E. et al. (2013). Dietary intervention impact on gut microbial gene richness. *Nature*. 500, pp. 585-588.

Cunningham, M., Vinderola, G., Charalampopoulos, D., Lebeer, S., Sanders, M. E. y Grimaldi, R. (2021). Applying probiotics and prebiotics in new delivery formats is the clinical evidence transferable? *Trends in Food Science & Technology*, 112, pp. 495-506.

Dardis, C., Simonelli, N., Medrano, M., Piermaria, J. A., y Abraham, A. G. (2025). A COMPARISON BETWEEN KEFIR AND WATER KEFIR. Capítulo 18 en: Kefir: properties, functionality, and health benefits. C. Conte & C. Vieira (Eds). Elsevier. Amsterdam, Países Bajos. En prensa.

Davis, L. M. G., Martínez, I., Walter, J., Hutkins, R. (2010). A dose dependent impact of prebiotic galactooligosaccharides on the intestinal microbiota of healthy adults. *International Journal of Food Microbiology*. 144, pp. 285–92.

De Paepe, K., Kerckhof, F. M., Verspreet, J., Courtin, C. M., y Van de Wiele, T. (2017). Inter-individual differences determine the outcome of wheat bran colonization by the human gut microbiome. *Environmental Microbiology*, 19 (8), pp. 3251-3267.

De Palma, G., Nadal, I., Medina, M., Donat, E., Ribes-Koninckx, C., Calabuig, M. et al. (2010). Intestinal dysbiosis and reduced immunoglobulin-coated bacteria associated with coeliac disease in children. *BMC Microbiology*, 10, 63.

Deehan, E. C., Yang, C., Perez-Muñoz, M. E., Nguyen, N. K., Cheng, C. C., Triador, L. et al. (2020). Precision microbiome modulation with discrete dietary fiber structures directs short-chain fatty acid production. *Cell Host Microbe*. 27, pp. 389–404.

Del Chierico, F., Vernocchi, P., Petrucca, A., Paci, P., Fuentes, S., Pratico, G. y Putignani, L. (2015). Phylogenetic and metabolic tracking of gut microbiota during perinatal development. *PLoS one*, 10 (9), 0137347.

den Besten, G., Van Eunen, K., Groen, A. K., Venema, K., Reijngoud, D. J. y Bakker, B. M. (2013). The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *Journal of Lipid Research*, 54 (9), pp. 2325-2340.

Donohoe, D. R., Holley, D., Collins, L. B., Montgomery, S. A., Whitmore, A. C., Hillhouse, A., Curry, K. P., Renner, S. W., Greenwalt, A., Ryan, E. P., Godfrey, V., Heise, M. T., Threadgill, D. S., Han, A., Swenberg, J. A., Threadgill, D. W. y Bultman, S. J. (2014). A gnotobiotic mouse model demonstrates that dietary fiber protects against colorectal tumorigenesis in a microbiota- and butyrate-dependent manner. *Cancer Discovery*, 4 (12), pp. 1387-1397.

Donohoe, D. R., Collins, L. B., Wali, A., Bigler, R., Sun, W. y Bultman, S. J. (2012). The Warburg effect dictates the mechanism of butyrate-mediated histone acetylation and cell proliferation. *Molecular Cell* 48, pp. 612–626.

Donohoe, D. R., Curry, K. P. y Bultman, S. J. (2013). Microbial oncotarget: bacterial-produced butyrate, chemoprevention and Warburg effect. *Oncotarget*, 4 (2), pp. 182.

Duncan, S. H., Louis, P., y Flint, H. J. (2004). Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces that produce butyrate as a major fermentation product. *Applied & Environmental Microbiology*, 70 (10), pp. 5810-5817.

Durán, R. y Valenzuela, A. (2010). La experiencia japonesa con los alimentos FOSHU: ¿Los verdaderos alimentos funcionales? *Revista Chilena de Nutrición*, 37 (2), pp. 224-233.

Elsayed, E. A., Farooq, M., Dailin, D., El-Enshasy, H. A., Othman, N. Z., Malek, R., Danial, E., y Wadaan M. (2017). *In vitro* and *in vivo* biological screening of kefir polysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens*. *Biomedical Research*, 28 (2), pp.594-600.

Erdogan, F. S., Ozarslan, S., Guzel-Seydim, Z. B. y Taş, T. K. (2019). The effect of kefir produced from natural kefir grains on the intestinal microbial populations and antioxidant capacities of Balb/c mice. *Food Research International*, 115, pp. 408-413.

Farup, P., Rud, K. y Hestad, K. (2016). Faecal SCFA: a diagnostic biomarker for irritable bowel synd. *BMC Gastroenterology*, 16, pp. 51-7.

Fels, L., Jakob, F., Vogel, R. F., y Wefers, D. (2018). Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir. *Carbohydrate Polymers*, 189, pp. 296-303.

Feria-Gervasio, D., Denis, S., Alric, M., y Brugère, J. F. (2011). *In vitro* maintenance of a human proximal colon microbiota using the continuous fermentation system P-ECSIM. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 91, pp. 1425-1433.

Fernández, J., Redondo-Blanco, S., Gutiérrez-del-Río, I., Miguélez, E. M., Villar, C. J. y Lombó, F. (2016). Colon microbiota fermentation of dietary prebiotics towards short-chain fatty acids and their roles as anti-inflammatory and antitumour agents: A review. *Journal of Functional Foods*, 25, pp. 511-522.

Figler, M., Mózsik, G., Schaffer, B., Gasztonyi, B., Ács, P., Szili, B., Rab, R. y Szakály, S. (2006). Effect of special Hungarian probiotic kefir on faecal microflora. *World Journal of Gastroenterology*, 12 (7), pp.1129-1132.

Fouhy, F., Watkins, C., Hill, C. J., O'Shea, C. A., Nagle, B., Dempsey, E. M. y Stanton, C. (2019). Perinatal factors affect the gut microbiota up to four years after birth. *Nature Communications*, 10 (1), pp. 1517.

Franks, A. H., Harmsen, H. J. M., Raangs, G. C., Jansen, G. J., Schut, F. y Welling, G. W. (1998). Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent in situ hybridisation with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, pp. 3336–3345.

Gao, Z., Guo, B., Gao, R., Zhu, Q. y Qin, H. (2015). Microbiota dysbiosis is associated with colorectal cancer. *Frontiers in Microbiology*, 6, 20.

Garrote, G. L., Abraham, A. G. y Rumbo, M. (2015). Is lactate an undervalued functional component of fermented food products? *Frontiers in Microbiology*, 6, 629.

Gentile, C. L. y Weir, T. L. (2018). The gut microbiota at the intersection of diet and human health. *Science*, 362 (6416), pp. 776-780.

Ghosh, T. S., Shanahan, F. y O'Toole, P. W. (2022). The gut microbiome as a modulator of healthy ageing. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 19 (9), pp. 565-584.

Gibson, G. R. y Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125 (6), pp. 1401-1412.

Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P., Verbeke, K. y Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14 (8), 491.

Giuliani, C., Marzorati, M., Daghighi, M., Franzetti, A., Innocenti, M., Van de Wiele, T., y Mulinacci, N. (2019). Effects of olive and pomegranate by-products on human microbiota: A study using the SHIME® *in vitro* simulator. *Molecules*, 24 (20), 3791.

Gomaa, E. Z. (2020). Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 113(12), pp. 2019-2040.

Gonçalves, D. A., González, A., Roupar, D., Teixeira, J. A. y Nobre, C. (2023). How prebiotics have been produced from agro-industrial waste: an overview of the enzymatic technologies applied and the models used to validate their health claims. *Trends in Food Science & Technology*, 135, pp. 74-92.

Gorzalak, M. A., Gill, S. K., Tasnim, N., Ahmadi-Vand, Z., Jay, M. y Gibson, D. L. (2015). Methods for improving human gut microbiome data by reducing variability through sample processing and storage of stool. *PloS one*, 10 (8), 0134802.

Grootaert, C., Van den Abbeele, P., Marzorati, M., Broekaert, W. F., Courtin, C. M., Delcour, J. A., ... y Van de Wiele, T. (2009). Comparison of prebiotic effects of arabinoxylan oligosaccharides and inulin in a simulator of the human intestinal microbial ecosystem. *FEMS Microbiology Ecology*, 69 (2), pp.231-242.

Gurry, T., Nguyen, L. T. T., Yu, X., Alm, E. J. (2021). Functional heterogeneity in the fermentation capabilities of the healthy human gut microbiota. *Plos one*. 16 (7), 0254004.

Hague, A., Elder, D. J. E., Hicks, D. J. y Paraskeva, C. (1995). Apoptosis in colorectal tumour cells: Induction by the short chain fatty acids butyrate, propionate and acetate and by the bile salt deoxycholate. *International Journal of Cancer*, 60, 400.

Hamet, M. F., Medrano, M., Pérez, P. F., y Abraham, A. G. (2016). Oral administration of kefir exerts a bifidogenic effect on BALB/c mice intestinal microbiota. *Beneficial Microbes*, 7 (2), pp. 237-246.

Hamet, M. F., Londero, A., Medrano, M., Vercammen, E., Van Hoorde, K., Garrote, G., Huys, G., Vadamme, P. y Abraham, A. G. (2013). *Food Microbiology*, 36, pp.327-334.

Heerdt, B. G., Houston, M. A. y Augenlicht, L. H. (1994). Potentiation by short-chain fatty acids of differentiation and apoptosis in human colonic carcinoma cell lines. *Cancer Research*, 54, 3288.

Heimann, E., Nyman, M., Pålbrink, A. K., Lindkvist-Petersson, K. y Degerman, E. (2016). Branched short-chain fatty acids modulate glucose and lipid metabolism in primary adipocytes. *Adipocyte*, 5 (4), pp.359-368.

Hill, C., Guarner, F., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., y Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11, pp. 506-514.

Holmes, Z. C., Villa, M. M., Durand, H. K., Jiang, S., Dallow, E. P., Petrone, B. L. et al. (2022). Microbiota responses to different prebiotics are conserved within individuals and associated with habitual fiber intake. *Microbiome*, 10, 114.

Holscher, H. D. (2017). Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. *Gut Microbes*, 8 (2), pp. 172-184.

Hooks, K. B. y O'Malley, M. A. (2017). Dysbiosis and its discontents. *MBio*, 8(5), pp. 10-1128.

Iebba, V., Totino, V., Gagliardi, A., Santangelo, F., Cacciotti, F., Trancassini, M., Mancini, C., Cicerone, C., Corazziari, E., Pantanella, F., y Schippa, S. (2016). Eubiosis and dysbiosis: the two sides of the microbiota. *New Microbiology*, 39 (1), pp. 1-12.

Isenring, J., Bircher, L., Geirnaert, A., y Lacroix, C. (2023). *In vitro* human gut microbiota fermentation models: opportunities, challenges, and pitfalls. *Microbiome Research Reports*, 2(1), 2.

ILSI, Scientific Concepts of Functional Foods in Europe: Consensus Document. (1999). *British Journal of Nutrition*, 81(1), S1-S27.

Instituto Nacional del Cáncer. Guía de procedimientos para la consejería y evaluación de antecedentes de riesgo. Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación. Año 2016. Cáncer: prevención y detección temprana | Argentina.gob.ar

Jacobsen, H., Poulsen, M. y Dragsted, L. O. (2006). Carbohydrate digestibility predicts colon carcinogenesis in azoxymethane-treated rats. *Nutrition and Cancer*, 55, pp. 163–170.

Jenab, A., Roghanian, R., Ghorbani, N., Ghaedi, K. y Emtiazi, G. (2020). The efficacy of electrospun PAN/kefir nanofiber and kefir in mammalian cell culture: promotion of PC12 cell growth, anti-MCF7 breast cancer cells activities, and cytokine production of PBMC. *International Journal of Nanomedicine*, 15, pp. 717–28.

Jonathan, M. C., van den Borne, J. J., van Wiechen, P., da Silva, C. S., Schols, H. A. y Gruppen, H. (2012). *In vitro* fermentation of 12 dietary fibres by faecal inoculum from pigs and humans. *Food Chemistry*, 133 (3), pp. 889-897.

Khan, M. T., Dwibedi, C., Sundh, D., Pradhan, M., Kraft, J. D., Caesar, R. et al., (2023). Synergy and oxygen adaptation for development of next-generation probiotics. *Nature*, 620 (7973), pp.381-385.

Kim, E., Coelho, D., y Blachier, F. (2013). Review of the association between meat consumption and risk of colorectal cancer. *Nutrition Research*, 33 (12), pp. 983-994.

Knights, D., Ward, T. L., McKinlay, C. E., Miller, H., Gonzalez, A., McDonald, D. y Knight, R. (2014). Rethinking “enterotypes”. *Cell Host and Microbe*, 16, pp. 433-437.

Kolodziejczyk, A. A., Zheng, D. y Elinav, E. (2019). Diet-microbiota interactions and personalized nutrition. *Nature Reviews Microbiology*, 17, pp.742-753.

Korpela, K., Flint, H. J., Johnstone, A. M., Lappi, J., Poutanen, K, Dewulf, E. et al. (2014). Gut microbiota signatures predict host and microbiota responses to dietary interventions in obese individuals. *PloS One*. 9, e90702.

Kovatcheva-Datchary, P., Nilsson, A., Akrami, R., Lee, Y. S., De Vadder, F., Arora, T. et al. (2015). Dietary fiber-induced improvement in glucose metabolism is associated with increased abundance of *Prevotella*. *Cell Metabolites*, 22, pp. 971-82.

Laiño, J., Villena, J., Kanmani, P. y Kitazawa, H. (2016). Immunoregulatory effects triggered by lactic acid bacteria exopolysaccharides: new insights into molecular interactions with host cells. *Microorganisms*, 4(3), 27.

Lam, K. C., Araya, R. E., Huang, A., Chen, Q., Di Modica, M., Rodrigues, R. R., Lopes, A., Johnson, S., Schwartz, B., Bohrsen, E., Cogdill, A., Bosio, C., Wargo, J. A., Lee, M. P. y Goldszmid, R. S. (2021). Microbiota triggers STING-typeI IFN-dependent monocyte reprogramming of the tumor microenvironment. *Cell*, 184 (21), pp. 5338-5356.

Lam, K. L., Keung, H. Y., Ko, K. C., Kwan, H. S. y Cheung, P. C. K. (2018). *In vitro* fermentation of beta-glucans and other selected carbohydrates by infant fecal inoculum: An evaluation of their

potential as prebiotics in infant formula. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 14, pp. 20-24.

Lange, O., Proczko-Stepaniak, M. y Mika, A. (2023) Short-Chain Fatty Acids—A Product of the Microbiome and Its Participation in Two-Way Communication on the Microbiome-Host Mammal Line. *Current Obesity Reports*, 12, pp. 108-126.

Ley, R. E., Turnbaugh, P. J., Klein, S. y Gordon, J. I. (2006). Microbial ecology—human gut microbes associated with obesity. *Nature*, 444, pp. 1022–1023.

Louis, P. y Flint, H. J. (2017). Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. *Environmental Microbiology*, 19 (1), pp.29-41.

Louis, P., Hold, G. L., y Flint, H. J. (2014). The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nature Reviews Microbiology*, 12 (10), pp. 661-672.

Lunken, G., Murphy, R., Butts, C., Brough, L., Rosendale, D., Blatchford, P., Stoklosinski, H., Coad, J. (2017). Variability in gut microbiota response to an inulin-type fructan prebiotic within an in vitro three-stage continuous colonic model system. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 11, pp. 26-37.

Lynch, S. V. y Pedersen, O. (2016). The human intestinal microbiome in health and disease. *New England Journal of Medicine*, 375 (24), pp. 2369-2379.

Ma, J., Sheng, L., Hong, Y., Xi, C., Gu, Y., Zheng, N., Li, H. et al. (2020). Variations of gut microbiome profile under different storage conditions and preservation periods: a multi-dimensional evaluation. *Frontiers in Microbiology*, 11, 972.

Macfarlane, G. T., Gibson, G. R. y Cummings, J. H. (1992). Comparison of fermentation reactions in different regions of the human colon. *Journal of Applied Bacteriology*, 72 (1), pp. 57-64.

Macfarlane, G. T., Macfarlane, S., y Gibson, G. R. (1998). Validation of a three-stage compound continuous culture system for investigating the effect of retention time on the ecology and metabolism of bacteria in the human colon. *Microbial Ecology*, 35, pp.180-187.

Macfarlane, G. T. y Macfarlane, S. (2007). Models for intestinal fermentation: association between food components, delivery systems, bioavailability and functional interactions in the gut. *Current Opinion in Biotechnology*, 18 (2), pp.156-162.

Mäkeläinen, H. S., Mäkiyuokko, H. A., Salminen, S. J., Rautonen, N. E., y Ouwehand, A. C. (2007). The effects of polydextrose and xylitol on microbial community and activity in a 4-stage colon simulator. *Journal of Food Science*, 72 (5), pp. 153-159.

Makivuokko, H., Nurmi, J., Nurminen, P., Stowell, J. y Rautonen, N. (2005). *In vitro* effects on polydextrose by colonic bacteria and caco-2 cell cyclooxygenase gene expression. *Nutrition and cancer*, 52 (1), pp. 94-104.

Martínez, I., Kim, J., Duffy, P. R., Schlegel, V. L., Walter, J. (2010). Resistant starch types 2 and 4 have differential effects on the composition of the fecal microbiota in human subjects. *Plos one*. 5, e15046.

Martino, C., Dilmore, A. H., Burcham, Z. M., Metcalf, J. L., Jeste, D. y Knight, R. (2022). Microbiota succession throughout life from the cradle to the grave. *Nature Reviews Microbiology*, 20 (12), pp. 707-720.

Marzorati, M., Ghyselinck, J., Van den Abbeele, P., Maruszak, A. y Harthoorn, L. (2023). Galactooligosaccharide (GOS) reduces branched short-chain fatty acids, ammonium, and pH in a short-term colonic fermentation model. *Applied Microbiology*, 3 (1), pp. 90-103.

Massarini, A. y Schnek, A. (2015). (coords.). *Ciencia entre todxs*, CABA, Paidós, 2015.

Matamoros, S., Gras-Leguen, C., Le Vacon, F., Potel, G. y de La Cochetiere, M. F. (2013). Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends in Microbiology*, 21 (4), pp.167-173.

May, M. P. y Ciocchini, F. I. (2018). Crisis alimentaria global, posibles salidas locales: Cultivos tradicionales, en La Plata, Argentina. *Observatorio Medioambiental*, 21.

Mayer, E. A., Tillisch, K. y Gupta, A. (2015). Gut/brain axis and the microbiota. *The Journal of Clinical Investigation*, 125 (3), pp. 926-938.

McOrist, A. L., Miller, R. B., Bird, A. R., Keogh, J. B., Noakes, M., Topping, D. L., Conlon, M. A. (2011). Fecal butyrate levels vary widely among individuals but are usually increased by a diet high in resistant starch. *The Journal of Nutrition*, 141, pp. 883-889.

Medrano, M., Gangoiti, M., Simonelli, N. y Abraham, A. (2020). Kefiran fermentation by human faecal microbiota: Organic acids production and *in vitro* biological activity. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 24, 100229.

Medrano, M., Hamet, M. F., Abraham, A. G y Pérez, P. F. (2009). Kefiran protects Caco-2 cells from cytopathic effects induced by *Bacillus cereus* infection. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 96 (4), 505.

Medrano, M., Racedo, S., Rolny, I., Abraham, A. G. y Pérez, P. F. (2011). Oral administration of kefir modulates the immune cell balance of lymphoid tissues associated to intestinal mucosa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (10), pp. 5299-5304.

Menezes, E. W., Tadini, C. C., Tribess, T. B., Zuleta, A., Binaghi, J., Pak, N., Vera, G., Tanasov Dan, M. C., Bertolini, A. C., Cordenunsi, B. R. y Lajolo, F. M. (2011). Chemical composition and nutritional value of unripe banana flour (*Musa acuminata*, var. Nanicão). *Plant Foods for Human Nutrition*, 66, pp. 231-237.

Merino, L., Moretti, A. F., Moure, M. C., Quiñoy, F., Esposito, F., Simonelli, N., Medrano, M. y León-Peláez, Á. (2022). Kefir de agua, una bebida con microorganismos probióticos: desde la producción ancestral y artesanal hasta la comercialización,

industrialización. *Revista del Foro de la Alimentación, la Nutrición y la Salud RFANUS* Vol 4. ISSN 2683-9520.

Minekus, M., Smeets-Peeters, M., Bernalier, A., Marol-Bonnin, S., Havenaar, R., Marteau, P., Alric, M., Fonty, G. y Huis In't Veld, J. H. J. (1999). A computer-controlled system to simulate conditions of the large intestine with peristaltic mixing, water absorption and absorption of fermentation products. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, pp. 108-114.

Molly, K., Vande Woestyne, M. y Verstraete, W. (1993). Development of a 5-step multi-chamber reactor as a simulation of the human intestinal microbial ecosystem. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 39, pp. 254-258.

Moradi, Z. y Kalanpour, N. (2019). Kefiran, a branched polysaccharide: Preparation, properties and applications: A review. *Carbohydrate Polymers*, 223, e115100.

Mörkl, S., Butler, M. I. y Wagner-Skacel, J. (2023). Gut-brain-crosstalk-the vagus nerve and the microbiota-gut-brain axis in depression. A narrative review. *Journal of Affective Disorders Reports*, 100607.

Morrison, D. J. y Preston, T. (2016). Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*, 7(3), pp. 189-200.

Musso, G., Gambino, R. y Cassader, M. (2010). Obesity, diabetes, and gut microbiota: The hygiene hypothesis expanded? *Diabetes Care* 33, pp. 2277–2284.

Nguyen, N. K., Deehan, E. C., Zhang, Z., Jin, M., Baskota, N., Perez-Muñoz, M. E. et al. (2020). Gut microbiota modulation with long-chain corn bran arabinoxylan in adults with overweight and obesity is linked to an individualized temporal increase in fecal propionate. *Microbiome*. 8, pp. 1-21.

Nguyen, T. L. A., Vieira-Silva, S., Liston, A., y Raes, J. (2015). How informative is the mouse for human gut microbiota research? *Disease Models & Mechanisms*, 8 (1), pp. 1-16.

Nieddu, A., Vindas, L., Errigo, A., Vindas, J., Pes, G. M. y Dore, M. P. (2020). Dietary habits, anthropometric features and daily performance in two independent long-lived populations from Nicoya peninsula (Costa Rica) and Ogliastra (Sardinia). *Nutrients*, 12 (6), 1621.

Nissen, L., Casciano, F., y Gianotti, A. (2020). Intestinal fermentation *in vitro* models to study food-induced gut microbiota shift: An updated review. *FEMS Microbiology Letters*, 367(12).

Olesen, S. W., y Alm, E. J. (2016). Dysbiosis is not an answer. *Nature Microbiology*, 1(12), pp. 1-2.

Oliver, L., Ramió-Pujol, S., Amoedo, J., Malagón, M., Serrano, M., Bahí, A. y Garcia-Gil, J. (2021). A novel grape-derived prebiotic selectively enhances abundance and metabolic activity

of butyrate-producing bacteria in faecal samples. *Frontiers in Microbiology*, 12, 639948.

Ottman, N., Smidt, H., de Vos, W. M. y Belzer, C. (2012). The function of our microbiota: who is out there and what do they do? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9 (2),104.

Payne, A. N., Zihler, A., Chassard, C. y Lacroix, C. (2012). Advances and perspectives in in vitro human gut fermentation modeling. *Trends in Biotechnology*, 30 (1), pp. 17-25.

Pengkumsri, N., Sivamaruthi, B. S., Sirilun, S., Peerajan, S., Kesika, P., Chaiyasut, K. y Cahiyasut, C. (2017). Extraction of β -glucan from *Saccharomyces cerevisiae*: Comparison of different extraction methods and in vivo assessment of immunomodulatory effect in mice. *Food Science and Technology*, 37 (1), pp. 124-130.

Pérez, P. F., Dore, J., Leclerc, M., Levenez, F., Benyacoub, J. y Serrant, P. (2007). Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells. *Pediatrics*, 119, pp. 724-732.

Perraudeau, F., McMurdie, P., Bullard, J., Cheng, A., Cutcliffe, C, Deo, A. et al. (2020). Improvements to postprandial glucose control in subjects with type 2 diabetes: a multicenter, double blind, randomized placebo-controlled trial of a novel probiotic formulation. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 8 (1), e001319.

Perrin, P., Pierre, F. y Patry, Y. (2001). Only fibres promoting a stable butyrate producing colonic ecosystem decrease the rate of aberrant crypt foci in rats. *Gut*, 48, pp. 53-61.

- Piermaria, J. A., Pinotti, A., Garcia, M. A. y Abraham, A. G. (2009). Films based on kefiran, an exopolysaccharide obtained from kefir grain: Development and characterization. *Food Hydrocolloids*, 23(3), pp. 684-690.
- Piermaria, J. A., de la Canal, M. y Abraham, A. G. (2008). Gelling properties of kefiran, a food-grade polysaccharide obtained from kefir grain. *Food Hydrocolloids*, 22(8), pp. 1520-1527.
- Poeker, S. A., Geirnaert, A., Berchtold, L., Greppi, A., Krych, L., Steinert, R. E., y Lacroix, C. (2018). Understanding the prebiotic potential of different dietary fibers using an *in vitro* continuous adult fermentation model (PolyFermS). *Scientific Reports*, 8 (1), 4318.
- Prasad, K. N. y Bondy, S. C. (2019). Dietary fibers and their fermented short-chain fatty acids in prevention of human diseases. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 17, 100170.
- Qi, X. y Tester, R. F. (2020). Gut associated lymphoid tissue: Carbohydrate interactions within the intestine. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 21, 100210.
- Ran-Ressler, R. R., Khailova, L., Arganbright, K. M., Adkins-Rieck, C. K., Jouni, Z. E., Koren, O. et al. (2011). Branched chain fatty acids reduce the incidence of necrotizing enterocolitis and alter gastrointestinal microbial ecology in a neonatal rat model. *Plos One*, 6 (12), e29032.

Ratajczak, W., Mizerski, A., Rył, A., Słojewski, M., Sipak, O., Piasecka, M. y Laszczyńska, M. (2021). Alterations in fecal short chain fatty acids (SCFAs) and branched short-chain fatty acids (BCFAs) in men with benign prostatic hyperplasia (BPH) and metabolic syndrome (MetS). *Aging*, 13(8), pp. 10934-10954.

Rautava, S., Kainonen, E., Salminen, S. y Isolauri, E. (2012). Maternal probiotic supplementation during pregnancy and breast-feeding reduces the risk of eczema in the infant. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 130 (6), pp. 1355-1360.

Rimada, P. S. y Abraham, A. G. (2001). Polysaccharide production by kefir grains during whey fermentation. *Journal of Dairy Research*, 68 (4), pp.653-661.

Rimada, P. S. y Abraham, A. G. (2003). Comparative study of different methodologies to determine the exopolysaccharide produced by kefir grains in milk and whey. *Le Lait*, 83 (1), pp. 79-87.

Rimada, P. S. y Abraham, A. G. (2006). Kefiran improves rheological properties of glucono- δ -lactone induced skim milk gels. *International Dairy Journal*, 16(1), pp. 33-39.

Rios-Covian, D., González, S., Nogacka, A. M., Arboleya, S., Salazar, N., Gueimonde, M., y de Los Reyes-Gavilán, C. G. (2020). An overview on fecal branched short-chain fatty acids along human life and as related with body mass index: associated dietary and anthropometric factors. *Frontiers in Microbiology*, 11, 513909.

Rodriguez, J., Hiel, S., Neyrinck, A. M., Le Roy, T., Pötgens, S. A., Leyrolle, Q. et al. (2020). Discovery of the gut microbial signature driving the efficacy of prebiotic intervention in obese patients. *Gut*, 69, pp.1975–87.

Rooks, M. G. y Garrett, W. S. (2016). Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nature Reviews Immunology*, 16(6), pp. 341-352.

Rossi, M., Jahanzaib Anwar, M., Usman, A., Keshavarzian, A. y Bishehsari, F. (2018). Colorectal cancer and alcohol consumption—populations to molecules. *Cancers*, 10 (2), 38.

Ruas-Madiedo, P., Abraham, A., Mozzi, F. y de Los Reyes-Gavilán, C. G. (2008). Functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. Molecular aspects of lactic acid bacteria for traditional and new applications, *Research Signpost*, pp. 137-166.

Sakurazawa, T. y Ohkusa, T. (2005). Cytotoxicity of organic acids produced by anaerobic intestinal bacteria on cultured epithelial cells. *Journal of Gastroenterology*, 40, pp.600-609.

Salazar, N., Gueimonde, M., de los Reyes-Gavilan, C. G. y Ruas-Madiedo, P. (2016). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria and bifidobacteria as fermentable substrates by the intestinal microbiota. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(9), pp. 1440-1453.

Salonen, A., Lahti, L., Salojärvi, J., Holtrop, G., Korpela, K., Duncan, S. H. et al., (2014). Impact of diet and individual variation

on intestinal microbiota composition and fermentation products in obese men. *The ISME Journal*, 8, pp. 2218-2230.

Sanders, M. E., Merenstein, D. J., Reid, G., Gibson, G. R. y Rastall, R. A. (2019). Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16 (10), pp.605-616.

Satokari, R. (2015). Contentious host–microbiota relationship in inflammatory bowel disease–can foes become friends again? *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 50 (1), pp. 34-42.

Schanche, M., Avershina, E., Dotterud, C., Øien, T., Storrø, O., Johnsen, R. y Rudi, K. (2015). High-resolution analyses of overlap in the microbiota between mothers and their children. *Current Microbiology*, 71, pp. 283-290.

Schroeder, D. (2007). Public Health, Ethics and Functional Foods. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 20, pp. 247-259.

Schwartz, A., Taras, D., Schäfer, K., Beijer, S., Bos, N. A., Donus, C. y Hardt, P. D. (2010). Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity*, 18 (1), pp. 190-195.

Scott, K. P., Martin, J. C., Duncan, S. H., y Flint, H. J. (2014). Prebiotic stimulation of human colonic butyrate-producing bacteria and bifidobacteria, in vitro. *FEMS Microbiology Ecology*, 87(1), pp. 30-40.

Sengupta, S., Muir, J. G., y Gibson, P. R. (2006). Does butyrate protect from colorectal cancer? *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 21(1), pp. 209-218.

Sharifi, M., Moridnia, A., Mortazavi, D., Salehi, M., Bagheri, M., y Sheikhi, A. (2017). Kefir: a powerful probiotic with anticancer properties. *Medical Oncology*, 34 (11), 183.

Shen, X. J., Rawls, J. F., Randall, T., Burcal, L., Mpande, C. N., Jenkins, N. et al. (2010) Molecular characterization of mucosal adherent bacteria and associations with colorectal adenomas. *Gut Microbes*, 1, pp 138-147.

Shimi, G. (2023). Dietary approaches for controlling cancer by limiting the Warburg effect: a review. *Nutrition Reviews*, nuad130.

Shiomi, M., Sasaki, K., Murofushi, M. y Aibara, K. (1982) Antitumor activity in mice of orally administered polysaccharide from Kefir grain. *Japanese Journal of Medical Science and Biology*, 35, pp, 75-80.

Simonelli, N., Gagliarini, N., Medrano, M., Piermaria, J. A. y Abraham, A. G. (2022). KEFIRAN. En: Polysaccharides of microbial origin: Biomedical applications. J. Oliveira, H. Radhouani, R.L. Reis (Eds.), Polysaccharides of microbial origin, Springer, Cham. Oxford, United Kingdom (2021), pp. 1-19

Simonelli, N. (2018). Efecto del kefiran en el metabolismo de la microbiota intestinal humana. Trabajo final de grado para la Lic. en Bioquímica, FCE, UNLP. Directora: Analía Abraham. Codirectora: Micaela Medrano.

Simonelli, N., Abraham, A. G. y Medrano, M. (2024). Stimulation of microbial butyrate synthesis through prebiotics. *Food Bioscience*, 105329.

Singh, V., Ryu, Y. C., Unno, T. (2021). Dietary intervention induced distinct repercussions in response to the individual gut microbiota as demonstrated by the *In vitro* fecal fermentation of beef. *Applied Science*. 11, 6841.

Singh, V., San Yeoh, B., Chassaing, B., Xiao, X., Saha, P., Olvera, R. A. et al. (2018). Dysregulated microbial fermentation of soluble fiber induces cholestatic liver cancer. *Cell*, 175 (3), pp. 679-694.

Sokol, H., Pigneur, B., Watterlot, L., Lakhdari, O., Bermúdez-Humarán, L. G., Gratadoux, J. J. et al. (2008). *Faecalibacterium prausnitzii* is an antiinflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proceeding of the National. Academy of Science of the U. S. A.*, 105, pp. 16731-16736

Srivastava, S., Singh, A., Sandeep, K. y Yadav, D. (2021). Epigenetic Regulation of Gut Microbial Dysbiosis. *Indian Journal of Microbiology*, 61, pp. 125-129.

Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K., Scott, K., Holscher, H., Azad, M., Delzenne, N. y Sanders, M. E. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17 (11), pp. 687-701.

Swanson, K. S., Grieshop, C. M., Flickinger, E. A., Bauer, L. L., Wolf, B. W., Chow, J. et al. (2002). Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify bowel function and protein catabolites excreted by healthy humans. *The Journal of Nutrition*, 132 (10), pp. 3042-3050.

Takiishi, T., Fenero, C. I. M. y Câmara, N. O. S. (2017). Intestinal barrier and gut microbiota: Shaping our immune responses throughout life. *Tissue Barriers*, 5(4), e1373208.

Tan, L. L., Ngiam, J. J., Sim, E. S. Z., Conway, P. L., y Loo, S. C. J. (2022). *Liquorilactobacillus satsumensis* from water kefir yields α -glucan polysaccharides with prebiotic and synbiotic qualities. *Carbohydrate Polymers*, 290, 119515.

Tannock, G. W. (2021). Modulating the gut microbiota of humans by dietary intervention with plant glycans. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(6), pp. e02757-20.

Tannock, G. W. y Liu, Y. (2020). Guided dietary fibre intake as a means of directing short-chain fatty acid production by the gut microbiota. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 50 (3), pp. 434-455.

Taormina, V. M., Unger, A. L., Schiksnis, M. R., Torres-Gonzalez, M. y Kraft, J. (2020). Branched-chain fatty acids—An underexplored class of dairy-derived fatty acids. *Nutrients*, 12 (9), pp. 2875.

Teichmann, J. y Cockburn, D. W. (2021). *In vitro* fermentation reveals changes in butyrate production dependent on resistant starch source and microbiome composition. *Frontiers in Microbiology*, 12, 640253.

Terpend, K., Possemiers, S., Daguet, D. y Marzorati, M. (2013). Different colonic fermentation behaviour of FOS and AG. *Environmental Microbiology Report*, 5, pp. 595-03.

Thompson, A. L., Monteagudo-Mera, A., Cadenas, M. B., Lampl, M. L. y Azcarate-Peril, M. A. (2015). Milk-and solid-feeding practices and daycare attendance are associated with differences in bacterial diversity, predominant communities, and metabolic and immune function of the infant gut microbiome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5, 3.

Tierney, B. T., Van den Abbeele, P., Al-Ghalith, G. A., Verstrepen, L., Ghyselinck, J., Calatayud, M. y Simmons, S. L. (2023). Capacity of a Microbial Synbiotic To Rescue the *In Vitro* Metabolic Activity of the Gut Microbiome following Perturbation with Alcohol or Antibiotics. *Applied and Environmental Microbiology*, 89 (3), pp. e01880-22.

Trefflich, I., Dietrich, S., Braune, A., Abraham, K. y Weikert, C. (2021). Short-and branched-chain fatty acids as fecal markers for microbiota activity in vegans and omnivores. *Nutrients*, 13(6), pp. 1808.

Trejo, F. M., De Antoni, G. L. y Pérez, P. F. (2013). Protective effect of bifidobacteria in an experimental model of *Clostridium difficile* associated colitis. *Journal of Dairy Research*, 80 (3), pp. 263-269.

Van de Wiele, T., Boon, N., Possemiers, S., Jacobs, H. y Verstraete, W. (2004). Prebiotic effects of chicory inulin in the simulator of the human intestinal microbial ecosystem. *FEMS Microbiology Ecology*, 51 (1), pp. 143-153.

Van den Abbeele, P., Roos, S., Eeckhaut, V., MacKenzie, D. A., Derde, M., Verstraete, W., Marzorati, M., Possemiers, S., Vanhoecke, B., Van Immerseel, F. y Van de Wiele, T. (2012). Incorporating a mucosal environment in a dynamic gut model results in a more representative colonization by lactobacilli. *Microbial Biotechnology*, 5 (1), pp.106-115.

Van den Abbeele, P., Venema, K., Van de Wiele, T., Verstraete, W. y Possemiers, S. (2013). Different human gut models reveal the distinct fermentation patterns of arabinoxylan versus inulin. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 61 (41), pp. 9819-9827.

Van Immerseel, F., Ducatelle, R., De Vos, M., Boon, N., Van De Wiele, T., Verbeke, K. et al. (2010). Butyric acid-producing anaerobic bacteria as a novel probiotic treatment approach for inflammatory bowel disease. *Journal of Medical Microbiology*, 59 (2), pp. 141-143.

Vasiljevic, T. y Shah, N. P. (2008). Probiotics—from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, 18 (7), pp. 714-728.

Vázquez-Frias, R., Abraham, A. G., Abreu, A. T., Binetti, A. G., Boggio-Marzet, C., Carrió, C., Castro-Rodríguez, M. L., Cruchet, S., Ladino, L., Taranto, M. P. y Vinderola, G. (2022). Acerca del uso del término “sinbióticos” en lengua española. *Revista Chilena de Nutrición*, 49(6), pp. 775-776.

Venema, K., Verhoeven, J., Verbruggen, S., Espinosa, L., y Courau, S (2019). Probiotic survival during a multi-layered tablet development as tested in a dynamic, computer-controlled in vitro model of the stomach and small intestine (TIM-1). *Letters in Applied Microbiology*, 69 (5), pp. 325-332.

Venkataraman, A., Sieber, J. R., Schmidt, A. W., Waldron, C., Theis, K. R., Schmidt, T. M. (2016). Variable responses of human microbiomes to dietary supplementation with resistant starch. *Microbiome*. 4, pp. 1-19.

Verbeke, K. A., Boobis, A. R., Chiodini, A., Edwards, C. A., Franck, A., Kleerebezem, M. y Tuohy, K. M. (2015). Towards microbial fermentation metabolites as markers for health benefits of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 28 (1), pp. 42-66.

Verghese, M., Rao, D. R. y Chawan, C. B. (2002). Dietary inulin suppresses azoxymethane-induced preneoplastic aberrant crypt foci in mature Fisher 344 rats. *Journal of Nutrition*, 132, pp. 2804-2808.

Verwei, M., Minekus, M., Zeijdner, E., Schilderink, R. y Havenaar, R. (2016). Evaluation of two dynamic *in vitro* models simulating fasted and fed state conditions in the upper gastrointestinal tract (TIM-1 and tiny-TIM) for investigating the bioaccessibility of pharmaceutical compounds from oral dosage forms. *International Journal Of Pharmaceutics*, 498(1-2), pp. 178-186.

Vinderola, G., Perdigón, G., Duarte, J., Farnworth, E. y Matar, C. (2006). Effects of the oral administration of the products derived from milk fermentation by kefir microflora on immune stimulation. *Journal of Dairy Research*, 73(4), pp. 472-479.

Walker, A. W., Ince, J., Duncan, S. H., Webster, L. M., Holtrop, G., Ze, X., Brown, D., Stares, M. D., Scott, P., Bergerat, A., Louis, P., McIntosh, F., Johnstone, A. M., Lobley, G. E., Parkhill, J. y Flint, H. (2011). Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. *The ISME Journal*, 5 (2), 220.

Walker, A. W. y Lawley, T. D. (2013). Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis. *Pharmacological research*, 69, pp. 75-86.

Walker, R. W., Clemente, J. C., Peter, I. y Loos, R. J. (2017). The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero? *Pediatric Obesity*, 12, pp. 3-17.

Wan, Y. J. Y., y Jena, P. K. (2019). Precision dietary supplementation based on personal gut microbiota. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16 (4), pp. 204-206.

Winawer, S., Fletcher, R., Rex, D., Bond, J., Burt, R., Ferrucci, J., Ganiats, T., Levin, T., Woolf, S., Johnson, D., Kirk, L., Litin, S. y Simmang, C. (2003). Colorectal cancer screening and surveillance: clinical guidelines and rationale—update based on new evidence. *Gastroenterology*, 124 (2), pp. 544-560.

Wu, X., Wu, Y., He, L., Wu, L., Wang, X. y Liu, Z. (2018). Effects of the intestinal microbial metabolite butyrate on the development of colorectal cancer. *Journal of Cancer*, 9 (14), 2510.

Yadav, M. K., Kumari, I., Singh, B., Sharma, K. K. y Tiwari, S. K. (2022). Probiotics, prebiotics and synbiotics: Safe options for next-generation therapeutics. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106 (2), pp. 505-521.

Yoo, J. Y., Groer, M., Dutra, S. V. O., Sarkar, A. y McSkimming, D. I. (2020). Gut microbiota and immune system interactions. *Microorganisms*, 8(10), 1587.

Yoo, M. J. Y. y Chen, X. D. (2006). GIT physicochemical modeling—a critical review. *International Journal of Food Engineering*, 2(4).

Zannini, E., Waters, D. M., Coffey, A. y Arendt, E. K. (2016). Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(3), pp. 1121-1135.

Zhang, M., Wang, Y., Zhao, X., Liu, C., Wang, B. y Zhou, J. (2021). Mechanistic basis and preliminary practice of butyric acid

and butyrate sodium to mitigate gut inflammatory diseases: a comprehensive review. *Nutrition Research*, 95, pp. 1-18.

Zhang, M., Li, R. W., Yang, H., Tan, Z. y Liu, F. (2022). Recent advances in developing butyrogenic functional foods to promote gut health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, pp. 1-22.

Zihler Berner, A., Fuentes, S., Dostal, A., Payne, A. N., Vazquez Gutierrez, P., Chassard, C., Grattepanche, F., de Vos, W. M. y Lacroix, C. (2013). Novel polyfermentor intestinal model (PolyFermS) for controlled ecological studies: validation and effect of pH. *PloS one*, 8(10), e77772.

Zimmermann, P. y Curtis, N. (2019). The effect of antibiotics on the composition of the intestinal microbiota-a systematic review. *Journal of Infection*, 79 (6), pp. 471-489.

Zmora, N., Suez, J. y Elinav, E. (2019). You are what you eat: diet, health and the gut microbiota. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 16 (1), pp. 35-56.

REFERENCIA WEB 1:

Ramírez Otero, P. y Bouvier, J. (29 noviembre 2020). Soledad Barruti y la ley de etiquetados frontales: “Hay evidencia de sobra para decir que realmente la necesitamos”. La Retaguardia. <https://laretaguardia.com.ar/>

REFERENCIA WEB 2:

Nayar, A. (27 de abril de 2024). Descifra tu Salud: Los Secretos del Intestino (Trailer español). YouTube. Recuperado el 17 de julio de 2025 de https://www.youtube.com/watch?v=jZkfx_jWLN8

REFERENCIA WEB 3:

Organización Mundial de la Salud (1 de marzo de 2024). Malnutrición. WHO. <https://www.who.int/>

Autores

Micaela Medrano es Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP y Profesora Adjunta de la asignatura Bromatología en UNAJ. Es Investigadora Adjunta CONICET. Trabaja en actividad biológica de polisacáridos, en particular, actividad prebiótica, evaluando la fermentabilidad de estos polímeros por parte de bacterias intestinales humanas en sistemas *in vitro*. Desarrolla proyectos de investigación radicados en la UNAJ relacionados con actividad prebiótica de subproductos de la industria alimentaria. Cuenta con numerosas publicaciones en revistas indexadas y comunicaciones en eventos científicos en el tema. Forma y ha formado RRHH en UNAJ, incluyendo alumnos y docentes en proyectos de investigación.

María Fernanda Hamet es Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP y Profesora Adjunta en Biología para Ciencias de la Salud, UNAJ. Actualmente se desempeña como Profesional de Apoyo de CONICET. Ha trabajado en el aislamiento, caracterización e identificación de bacterias productoras de polisacáridos, en la caracterización de estos polímeros y en su actividad prebiótica. Ha dirigido y codirigido RRHH en UNAJ, donde participa de proyectos de investigación.

Judith A. Piermaria es Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP y Profesora Adjunta del Área Bioquímica y Control de Alimentos de la UNLP. Es Investigadora Adjunta del CONICET. Tiene amplia experiencia en la evaluación de propiedades tecnofuncionales de biopolímeros para su utilización en el desarrollo de geles, películas y emulsiones comestibles. Cuenta con numerosas publicaciones en revistas indexadas. Ha dirigido y codirigido RRHH en la UNLP y en la UNAJ, donde participa de proyectos de investigación.

Analia G. Abraham es Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP y Profesora Titular del Área Bioquímica y Control de Alimentos de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP. Es Investigadora Superior del CONICET. Tiene una vasta trayectoria en alimentos fermentados artesanales (Kefir) y en el aislamiento de polímeros a partir de diversas fuentes naturales y en el estudio de sus propiedades funcionales y biológicas focalizadas en la potencialidad prebiótica. Ha formado numerosos RRHH y ha dirigido gran cantidad de proyectos de investigación. Tiene más de 90 publicaciones en revistas indexadas, así como comunicaciones en eventos científicos.

María Virginia Gangoiti es Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP y JTP de la asignatura Anatomía e Histología de las carreras de Farmacia, Optometría, Profesorado y Biotecnología de la UNLP. Es Investigadora Adjunta de la CIC-PBA. Ha trabajado las Dras. Abraham, Hamet y Medrano en la caracterización de cepas de bacterias lácticas productoras de polisacáridos y en la puesta a punto de un modelo de fermentación

in vitro con barros fecales. Trabaja actualmente en estudiar la relación entre la microbiota, el síndrome metabólico y diabetes sobre sistema vascular y sistema óseo. Tiene numerosas publicaciones en revistas científicas indexadas. Ha participado de proyectos de investigación orientados (PIO) en UNAJ:

Nicolas Simonelli (Lic. en Bioquímica) es becario doctoral CONICET. Su tema de tesis se relaciona con el aprovechamiento de subproductos de la industria alimentaria como aditivos alimentarios con actividad prebiótica. Participa de proyectos de investigación radicados en la UNAJ, donde además es docente. Colabora con la Dra. Medrano en la formación de RRHH de UNAJ como tutor. Los resultados obtenidos en el marco de su beca constituyen un aporte a los resultados que se presentan en esta obra.

Evelyn Perrone-Edelstein es Médica egresada de la Universidad Nacional Arturo Jauretche (cohorte 2016). Actualmente desempeña su profesión en el sector privado, en consultorios e internación de adultos, realizando a su vez el Curso Superior de Clínica Médica para acreditar la especialidad. Además de desempeñarse como docente en las carreras de Enfermería, Radiología, Esterilización e Instrumentación Quirúrgica de la escuela de Salud Instituto Superior Cassatti (Fundación MEH Dr Mario E. Hidalgo). Durante su etapa de estudiante, llevó a cabo labores de voluntaria ante la emergencia de la pandemia por SARS cov 19, formando parte también del grupo de trabajo en el marco de una beca BIEI UNAJ y participa actualmente como integrante de uno de los proyectos de investigación (UNAJ Investiga). Llevó

adelante el relevamiento de datos de donantes de muestras para los ensayos incluidos en esta obra.

Natalia Moreira (Bioq.) ha egresado de la carrera de Bioquímica de la UNAJ, cohorte 2024. Actualmente se encuentra realizando la residencia en la especialidad de Bioquímica con Orientación en Metabolopatías y Pesquisa Neonatal con sede en el Hospital Interzonal de Agudos Especializado en Pediatría "Sor Maria Ludovica" de La Plata y el Hospital Interzonal General de Agudos "San Roque" de la localidad de Gonnet, Provincia de Buenos Aires. Realizó su trabajo final de grado en fermentación *in vitro* de polisacáridos de diverso origen en el marco de una beca de entrenamiento BIEI-UNAJ y participando de proyectos de investigación UNAJ Investiga y PIO CONICET UNAJ UNLP. Los resultados de su trabajo final y beca han sido presentados en eventos científicos y constituyen un aporte a los que se presentan en esta obra.

Martin Reymar (Bioq.) es egresado de la carrera de Bioquímica de la UNAJ cohorte 2023. Actualmente, se desempeña como bioquímico de guardia en el Sanatorio Sagrado Corazón y como docente universitario ayudante en la cátedra de Química Orgánica para la carrera de Bioquímica, en la misma universidad, tras completar el programa de formación docente dictado en ella. Realizó su trabajo final en fermentación *in vitro* de betaglucanos obtenidos de paredes de levaduras en el marco de una beca de entrenamiento CIN, cuyos resultados se presentan en esta obra.

Esta obra presenta los resultados de dos proyectos de investigación de la Universidad Nacional Arturo Jauretche (UNAJ), centrados en el impacto de ciertas fibras alimentarias en la microbiota intestinal. Los estudios exploran cómo estas fibras, fermentadas por bacterias benéficas en el colon, promueven la producción de ácido butírico, un compuesto con efectos positivos en la salud del hospedador. A partir de muestras provenientes de individuos sanos y con patologías inflamatorias intestinales, los proyectos evalúan el potencial de estas fibras para restaurar el equilibrio microbiota-salud en un modelo de fermentación in vitro.

Además, se abordan otros temas vinculados a los alimentos funcionales, el conocimiento general sobre éstos y los modelos de estudio utilizados por la comunidad científica. Se discuten también las variabilidades inter-individuales de la microbiota intestinal y las intervenciones dietarias personalizadas, proporcionando un panorama integral para introducir al lector en este fascinante ecosistema que todos llevamos dentro.



Secretaría de
**Investigación y
Vinculación Tecnológica**

Dirección de
**Gestión de la
Investigación**

