

ARTÍCULO DE REVISIÓN

Fundamentos de la microbiota y el microbioma. Avances en investigación sobre el microbioma intestinal humano

*Fundamentals of the microbiota and microbiome.
Advances in human intestinal microbiome research*

Pedro Antonio Prieto, PhD., MS., MA.¹

.....
1. Chief Medical Advisor of Bobbie Inc. Medical Affairs

*Es un honor el haber sido invitado a participar
en un homenaje científico para del Dr. José Félix Patiño,
un ejemplo de innovación en el campo de la nutrición clínica
y de objetividad científica en el tratamiento de pacientes.*

Resumen

El término “flora intestinal” evolucionó en las últimas décadas hasta bifurcarse en conceptos más precisos como “microbiota” y “microbioma”, o predominantemente funcionales como “probiótico”. Esta evolución fue generada por dos innovaciones importantes: La primera, el desarrollo de las herramientas de la genética y su tránsito de la dependencia de isótopos radiactivos hacia tecnologías modernas de disponibilidad amplia y bajo costo. La segunda, el reconocimiento de la complejidad y abundancia de los microbios que residen en simbiosis, comensalismo o parasitismo en el cuerpo humano. Este reconocimiento aunado al progreso en desempeño cibernético, han permitido el estudio sistemático del metabolismo, fisiología, bioquímica y genética de numerosas especies de virus, bacterias, arquea, y eucariotas que interactúan de manera habitual con el organismo. Se han escrito revisiones de hallazgos recientes sobre el microbioma humano; se destaca la publicación en la revista Science en mayo del 2022 (1), en la que varios investigadores exploran los diferentes microbiomas del cuerpo humano, mientras que otros escritos publicados recientemente se avocan a describir las tecnologías modernas que permiten hacer estudios de poblaciones microbianas a gran escala, y en ocasiones correlacionar especies o géneros de microbios (principalmente bacterias) con metabolitos en la circulación sistémica. La presente revisión se estructuró para abarcar fundamentos científicos de la microbiota y el microbioma gastrointestinal de humanos descritos en publicaciones recientes (2017 – 2022) y ordenadas

Recibido:
Diciembre 16, 2022

Aceptado:
Marzo 01, 2023

Correspondencia:
paprieto@msn.com

DOI: 10.56050/01205498.2234

desde el período intrauterino hasta la madurez, pues las diferentes etapas del desarrollo humano transcurren en paralelo con los eventos de establecimiento, consolidación y senescencia del microbioma.

Palabras clave: Microbiota; Microbioma; Microflora; Salud Intestinal; Probióticos; Prebióticos; Simbióticos.

Abstract

The term “intestinal flora” evolved through the last few decades until it became fragmented into new, more precise concepts such as microbiota and microbiome, or more practical terms such as probiotics.” Two crucial innovations fueled this conceptual evolution. The first one was the development of modern genetics tools exemplified by the transit from the dependence on radioactive isotope sequencing towards modern technologies that are widely accessible in terms of use and cost. The second innovation was the simultaneous recognition of the complexity of the populations of microorganisms living as symbionts, commensals, or parasites in the human organism and the availability of increased computing power. These changes allowed us to systematically study the metabolism, physiology, genetics, and biochemistry of numerous species of viruses, bacteria, archaea, and eukaryotes that habitually interact with the human organism. Recently written accounts Published in *Science* on the human microbiome (1), have described the state of the art in microbiome relevant research. In this review, several researchers describe the different human microbiomes. Other recently published manuscripts described modern technologies that allow for large-scale microbial population analysis and correlate microbial (mainly bacteria) species or genera with metabolites in the systemic circulation. The present review was structured to encompass the scientific fundamentals of the human intestinal microbiota and microbiome as a springboard to review recent findings (2017-2022) ordered according to human developmental stages. A time scale from intrauterine development to the adult stage was used since this continuum runs in parallel with the events of establishment, consolidation, and senescence of the human gut microbiome.

Keywords: Microbiota; Microbiome; Microflora; Intestinal Health; Probiotics; Prebiotics; Symbiotics.

Terminología

En un comentario tan poético como informativo, publicado en *The Scientist*, Joshua Lederber y Alexa McCray (2) exploran las etimologías de términos biológicos y médicos que a veces se utilizan de manera ambivalente, y cuya esencia difusa puede resultar

en definiciones contradictorias para un mismo término. En la citada publicación sus autores comentan [Traducción]: “*El hecho de que la mayoría de estos términos hayan sido artificialmente concebidos como slogans para llamar la atención, no implica que sean superficiales dado que se encuentran en la frontera de la innovación de la ciencia y la tecnología*”. En otras

ocasiones los vocablos técnicos son adoptados por departamentos de mercadeo en la comercialización de suplementos nutricionales y otros productos y el público adapta los términos de acuerdo con las expectativas de desempeño promovidas por casas comerciales. Los conceptos microbioma y microbiota son ejemplos de esta terminología, pues se utilizan indistintamente a pesar de no ser estrictamente equivalentes. Su utilización, sin contextualización, causa confusión en los lectores de manuscritos o estudiantes de distintas disciplinas. Existen en el mercado de Estados Unidos un producto llamado “*Ultimate Microbiome*” y un laboratorio de suplementos llamado precisamente “*Microbiome labs*”. Evidentemente ni el producto ni el laboratorio pueden proporcionar un microbioma completo. Intentando establecer consenso, Marchesi y Ravel (3) publicaron una propuesta que intentaba arbitrar entre la utilización de términos apropiados para los informes de los investigadores y que fuese consistente con la necesidad de aplicar lineamientos generales para facilitar la transmisión del conocimiento y de resultados experimentales. La rápida evolución de la tecnología causó que se acuñaran definiciones en cuanto se generaba la necesidad de clarificar o evolucionar nociones arcaicas. Por ejemplo, el concepto de microbiota se alimenta de conceptos como *flora intestinal*, *microflora* y *microfauna*. Estos conceptos dejan de ser útiles cuando se descubre que algunos eucariotas, virus y hongos forman parte de la biota gastrointestinal. Desafortunadamente, la misma rapidez con la que el campo avanza y el incremento en el volumen de publicaciones de diversa calidad hacen difícil rectificar cuando se encuentran errores en la literatura científica. Por ejemplo, en la meritoria propuesta de Marchesi y Ravel (3) se lee: “El término microbiota fue definido primero por Lederberg y McCray (2)”, sin embargo, “microbiota” no se menciona una sola vez en la citada referencia. Prescott (4), explica la importancia de adjudicar las referencias correctamente utilizando este ejemplo. Atribuir diligentemente el trabajo científico a sus creadores no es un asunto de

prurito metodológico, es importante para dar seguimiento a líneas de pensamiento y a su correlación con el trabajo experimental y clínico.

Para efectos de la presente revisión *microbiota* es: “*conjunto de microbios que habitan un nicho ecológico.*” En este sentido, un nicho puede ser un fluido biológico, tejido u órgano de un organismo multicelular. Adicionalmente, los ecosistemas del agua marina o lacustre y el suelo contienen microbiotas que a su vez son esenciales para actividades humanas como la agricultura. Para clarificar la definición es necesario precisar que el término *microbios* abarca bacterias, arquea, eucariotas y virus.

Cinco años después de la propuesta de Marchesi y Ravel, Gabriele Berg y un grupo de expertos en el campo del microbioma (5) se avocaron a la tarea de examinar prolijamente los elementos de una nueva definición de “microbioma” también clarificando y acotando la definición prevaleciente de “microbiota”. La definición de microbioma, que se asume en este escrito es: “*conjunto de la microbiota más su teatro (escenario, entorno) de acción.*” Esta definición surge de elegir la acepción ecológica del sufijo “bioma” fusionándolo con la raíz “micro”. En este sentido el término “bioma” abarca tanto los componentes biológicos como los componentes abióticos y ambientales de un ecosistema. De estudiar a los seres vivos residentes (y transitorios) de un nicho o ecosistema hemos pasado a estudiar su teatro de operaciones o de actividades y sus genomas. Es importante aclarar que otras definiciones asumen la fusión de los términos “microbio” y “genoma”; estas toman elementos de Whipps (6) y son más limitadas en su alcance, pues implica que los cromosomas, genes, plásmidos, ADN mitocondrial, las secuencias de ARN y elementos genéticos del ambiente son los elementos que diferencian el microbioma de la microbiota. Aun así, hay innumerables publicaciones que usan los dos términos como si fuesen equivalentes, de ahí que el contexto es imprescindible para entender la literatura relevante.

Transición: De considerar a los microbios a considerar su bioquímica y su genética

Es válido preguntarse por qué si varios autores utilizan los términos microbiota y microbioma indistintamente, no se colapsan en uno solo de manera consensual. La respuesta encierra una paradoja definitoria. Si consideramos que microbiota es el conjunto de seres vivos en un nicho o ecosistema estamos al mismo tiempo acotando nuestra definición a lo que podemos ver y detectar. En un principio cuando se cultivaron organismos en presencia de oxígeno se podían detectar y describir organismos aeróbicos y tal vez algunos aeróbicos facultativos. En cuanto se desarrollaron técnicas de incubación en ambientes realmente anaeróbicos, pudimos darnos cuenta de que microorganismos anaeróbicos obligados (como *Clostridium perfringens*, *C. difficile* y *C. botulinum*) estaban presentes en muestras fecales de humanos. Resulta que con el advenimiento de las tecnologías de la genética contemporánea ahora se puede asegurar que hay una variedad de células procariotas residentes en el colon humano, que no son cultivables. La genética moderna ha revelado más sobre el microbioma del colon que las especies que se catalogaron durante muchos años utilizando técnicas de cultivo.

Independientemente de la presión parcial de oxígeno durante la incubación, algunas especies se pueden cultivar únicamente cuando se elucida su codependencia con otras especies, con metabolitos proporcionados por otros microbios o con condiciones provistas por su huésped. Los estudios de genética en la microbiota no han parado ahí; se han detectado nuevas especies, subespecies y variantes. Por otro lado, se han encontrado genes que codifican transportadores moleculares que no se expresan salvo que factores ambientales complejos sean conducentes a su síntesis. Con el advenimiento de la metabolómica hemos podido determinar y medir la actividad biológica de especies que conforman el microbioma. No sólo podemos cultivar organismos o determinar su presencia utilizando sondas para ADN que codifica ARN ribosomal, podemos medir su impacto metabólico en el resto del micro-

bioma y en el huésped. Actualmente se exploran correlaciones del metagenoma fecal (compuesto en su mayoría por material genético del microbioma) y metabolitos característicos del microbioma. Mas allá de estas correlaciones se está investigando si cambios en el metaboloma del suero sanguíneo debidos a cambios en la composición del microbioma pueden predecir la presencia de cáncer colorrectal y adenomas (7) entre otras patologías.

Fundamentos

Las relaciones habituales entre organismos de distintas especies, distintos géneros y aún de distintos dominios taxonómicos no son la excepción sino la regla. Los animales primitivos del *phylum porifera* (que abarca a las esponjas) tienen microbiotas individuales que pueden o no ser representativas de la microbiota del agua circundante (8). Sin embargo, ciertos microbios y las esponjas tienen una relación sinérgica de simbiosis demostrada por la permisividad que otorgan las esponjas a algunas bacterias para acceder al interior de capas celulares vedadas para otros procariotas. Dado que en el caso de las esponjas no existen tejidos propiamente dichos, resulta fácil considerar la suma de la actividad vital de la microbiota y su huésped; a esta suma se le denomina holobionte (9). De hecho, se está consolidando un campo de investigación alrededor de la teoría del holobionte, en la cual se considera a un organismo y a los distintos microbiomas que este hospeda como un “meta-organismo” (10). Los dos componentes del holobionte viven en simbiosis y cuando esta se altera se establece un estado de disbiosis.

En los humanos existe una relación similar entre el huésped y su microbioma y se reconoce que la microbiota “normal” del intestino promueve homeostasis entre el huésped y los microbios residentes. No solo eso, la disbiosis causada por dominancia de patógenos o por un estado inflamatorio, se reduce o elimina con el restablecimiento de la microbiota habitual y la consecuente restauración de la homeostasis (11). Esta relación entre alteraciones del microbioma durante episodios de enfermedad se estudiaba y describía mu-

cho antes de que se acuñaran los términos microbiota y microbioma (12). En algunos casos es difícil establecer si el microbioma cambia a consecuencia de la disbiosis o si la disbiosis es consecuencia de un estado patológico que la antecede. Se han descrito cambios en el microbioma en pacientes con patologías tan disímiles como cáncer (13,14), Miastenia Gravis (15) y el trastorno del espectro autista (16,17).

El ejemplo clásico de disbiosis como consecuencia de la alteración del microbioma es la proliferación de *Clostridioides difficile* (anteriormente clasificado en el género *Clostridium*) y la concomitante producción de su toxina durante y después del tratamiento con antibióticos (18). Sin embargo, la proliferación de *C. difficile* no es el único cambio significativo en el microbioma del colon después del tratamiento; la diversidad total del microbioma se reduce y el balance entre poblaciones microbianas cambia, incrementándose *Proteobacteria* y disminuyendo *Firmicutes* entre otros *phyla* (19). En esa misma publicación se menciona la adminis-

tración de “bióticos” como una de las soluciones para el manejo de la infección por *C. difficile*. Este término, que pasa como sufijo en conceptos como *probiótico*, se originó para definir componentes del microbioma que promueven la salud del huésped.

La utilización comercial de los términos “probiótico”, “prebiótico”, “simbiótico” y “posbiótico” ha transmitido una noción cuasi dogmática de que el estado de simbiosis se puede mejorar u optimizar utilizando ciertos productos que a veces no cumplen con sus respectivas definiciones científicas. Por ejemplo, un probiótico debe sobrevivir al tránsito a través del sistema gastrointestinal hasta llegar al colon, y en algunos casos no existe evidencia de que ciertas preparaciones comerciales etiquetadas como probióticos cumplan con este requisito. Esto causó preocupación en investigadores y profesionales de la salud, pues los mensajes comerciales desvirtuaron el sentido biológico de las definiciones originales y grupos de expertos se reunieron para llegar a sendos consensos sobre los términos citados anteriormente

Término	Definición (traducción)	Definición original	Referencia
Probióticos	Microorganismos vivos que, si se administran en cantidades adecuadas, confieren un efecto benéfico para la salud del huésped.	Live microorganisms that, when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host.	20
Prebióticos	Un substrato que es utilizado selectivamente por microorganismos del huésped y que le confiere un beneficio a su salud.	A substrate that is selectively utilized by host microorganisms conferring a health benefit.	21
Simbióticos	Una mezcla que comprende microorganismos y substratos que son utilizados selectivamente por microorganismos del huésped. Dicha mezcla confiere beneficios a la salud del huésped.	A mixture comprising live microorganisms and substrate(s) selectively utilized by host microorganisms that confers a health benefit on the host.	22
Posbióticos o Postbióticos	Una preparación de microorganismos inanimados o sus componentes, que confiere un beneficio para la salud del huésped.	A preparation of inanimate microorganisms and/or their components that confers a health benefit on the host.	23

Tabla 1. Definiciones de diferentes bióticos.

(20, 21,22, 23). La **Tabla 1** resume las definiciones para los diferentes “bióticos”. En el contexto de los párrafos anteriores se puede abordar la investigación sobre el microbioma humano desde varios puntos de vista. Uno de ellos es la historia biológica del microbioma durante el desarrollo humano, desde las etapas *in utero* hasta la senescencia.

Desarrollo intrauterino

Durante la última década se han publicado hallazgos que describen el desarrollo del sistema inmunológico humano *in utero*. Dos líneas de investigación, aparentemente disímiles e independientes, se han fusionado en los últimos cinco años para describir el papel de microbiomas que habitan órganos maternos y fetales y la incidencia de microorganismos en la promoción de tolerancia durante el desarrollo fetal (24,25). La primera línea tiene que ver con el desarrollo de tolerancia hacia antígenos maternos y propios durante el desarrollo fetal (26). Tomando ventaja de estudios clínicos sobre trasplantes renales en adultos, Claas y sus colaboradores (27) encontraron que el 50 % de los sujetos mostraba tolerancia hacia antígenos maternos reconocidos por leucocitos. Esta y otras observaciones indican que el desarrollo de tolerancia inmunológica fetal trasciende hasta la edad adulta. Existe pues evidencia contundente en apoyo de una programación o educación significativa del sistema inmune durante el desarrollo fetal (28).

La segunda línea de investigación ha elucidado la presencia de microbiomas en órganos y tejidos humanos que se pensaba eran estériles. Dos ejemplos son los microbiomas de los pulmones (29) y la sangre (30). La existencia de un microbioma sanguíneo en la salud (*Healthy Blood Microbiome, HBM*) es todavía controversial, a pesar de que la evidencia se ha ido acumulando desde que Tedeschi y sus colaboradores detectaron actividad metabólica que sugería la presencia de micoplasmas o bacterias en la sangre humana (31). Sin embargo, la detección y clasificación de microbiomas en tejidos fetales y en otros tejidos saludables de humanos, depende de la

sensibilidad de métodos capaces de encontrar microbios presentes en concentraciones muy bajas (32).

Las dos líneas de investigación citadas anteriormente se han fusionado durante el último lustro en un campo que aspira a dilucidar el papel de microbiomas maternos y fetales en el desarrollo de tolerancia inmunogénica. Es importante aclarar que la hipótesis central de esta fusión es la presencia de microbiomas en tejidos fetales *in utero* y que para algunos investigadores esta presencia es todavía controversial. Tal vez, el ejemplo más claro de la fusión de los campos de la inmunología y la microbiología en términos de generación de tolerancia sea el artículo de Mishra y cols. (25). Este grupo de investigadores diseñó técnicas de colección de tejidos fetales durante el segundo trimestre de gestación y encontró la presencia de poblaciones bacterianas selectas utilizando técnicas de cultivo, detección utilizando microscopía electrónica e hibridación *in situ* de ARN ribosomal. Posteriormente, encontraron que se había inducido tolerancia específica hacia antígenos de las bacterias residentes en microbiomas de varios tejidos fetales. En el mismo número de la revista Cell, Parker y cols. (33) reconocen los alcances potenciales de tan importantes observaciones, aun cuando continúan sugiriendo precaución en la interpretación de datos provenientes de cantidades pequeñas de bacterias que son residentes putativas de tejidos fetales. El debate sobre la existencia de una microbiota *pre partum* se puede ilustrar con publicaciones que apoyan la aserción de que el meconio humano tiene un microbioma distintivo (34) o que carece de este (35, 36). Es posible que pequeñas cantidades de bacterias sean responsables de inducir tolerancia para prevenir respuestas del sistema inmune hacia bacterias benéficas, pero hay evidencia que indica que la colonización más importante (numéricamente) del intestino humano ocurre *post partum*. Las dos fuentes microbianas de la colonización extrauterina más mencionadas en la literatura son la leche humana y la inoculación durante el tránsito vaginal en el parto.

El microbioma de la leche humana

Se ha detectado la presencia de microorganismos en la leche humana y algunos investigadores sostienen que hay un microbioma formal en este fluido biológico (37,38). Tal y como es en el caso del microbioma de tejidos fetales, existe controversia respecto a la importancia relativa del microbioma lácteo en la colonización gastrointestinal *post partum*. Fernández y colaboradores (39) indican la posibilidad de que exista un microbioma del tejido mamario diferenciado durante la lactancia y aun en la glándula mamaria inactiva. Se han propuesto tres mecanismos principales para explicar el origen del microbioma de la leche materna. En el primer mecanismo bacterias de la cavidad oral infantil son transferidas contracorriente durante la lactancia. Este mecanismo explica la presencia de *Streptococcus salivarius* y *S. Mitis* (entre otras bacterias) en la leche humana. Un segundo mecanismo es la colonización a partir de la microbiota de la piel adquirida a través del pezón. Este tipo de inoculación sería responsable de la presencia de *Corinebacterium spp.* y *S. Epidemidis* entre otras especies y géneros. El mecanismo potencial más fascinante justificaría la presencia (en la leche humana) de anaerobios estrictos que normalmente habitan el intestino humano como es el caso de los géneros *Bifidobacterium*, *Clostridium* y *Saccharomyces*.

Esta forma de translocación bacteriana del intestino materno hacia la glándula mamaria lleva por nombre vía entero-mamaria o transporte entero-mamario (traducción de *entero-mammary pathway*) e implica la internalización y el transporte de bacterias del tracto gastrointestinal por células dendríticas utilizando la circulación linfática (40,37). La existencia de la vía entero-mamaria es apoyada por experiencias *in vivo* en las que se ha verificado la presencia de géneros bacterianos en las heces, la sangre, el calostro y la leche de cerdas (41). La existencia de la vía entero-mamaria puede explicar, en parte, la disminución de la respuesta inmune en díadas madre-lactante. Dado que las especies bacterianas que migran desde el tracto digestivo inducen tolerancia, su incremento en el torrente sanguíneo y el tejido

mamario pueden reducir la respuesta proinflamatoria a patógenos como SARS-CoV-2 (42).

Por otro lado, la leche humana tiene un repertorio diverso de oligosacáridos (43,44) que incluye estructuras de hidratos de carbono fermentables selectivamente por bacterias benéficas en el colon infantil (45). Esto implica que la lactancia proporciona una combinación simbiótica, pues contiene bacterias que proporcionan beneficios a la salud (probióticos) y sustratos utilizables preferencial o selectivamente por dichas bacterias (prebióticos). Una pregunta que resulta del análisis de la presencia simultánea de probióticos y prebióticos en la leche humana es si existe fermentación que resulte en ácido láctico, ácidos grasos de cadena corta e incluso alcohol (por la presencia potencial de *Saccharomyces spp.*) en la glándula mamaria durante la lactancia. Aun si aceptamos que la presencia de anaerobios estrictos en la leche humana es controversial, existen datos convincentes sobre la presencia de *Lactobacillus spp* como componente de la microbiota láctea en ratones que ingieren microorganismos fermentativos durante la lactancia. En este experimento se administraron los lactobacilos por vía oral para determinar su acceso a los ganglios linfáticos mesentéricos, la glándula mamaria y la leche (46). Por otro lado, la presencia de lactosa en la leche de ratón ha sido reportada por varios investigadores (47,48), lo que sugiere la presencia simultánea de prebióticos fermentativos y sus sustratos en la glándula mamaria. De existir fermentación y de ser esta beneficiosa para las madres, se podría pensar que cuando menos durante la lactancia existe un holobionte transicional entre la madre, sus hijos siendo amamantados y sus microbiomas combinados. Esto constituiría un beneficio adicional de la lactancia para la madre, si es que existe un estado de eubiosis en la glándula mamaria durante la lactancia. Aun cuando la inoculación directa por vía de la leche todavía genera controversia, está claro para la mayoría de los investigadores la importancia de la inoculación *post partum*.

El microbioma durante la infancia

Aunque algunos componentes del microbioma fetal sean conferidos *in utero* y componentes del microbioma lácteo *post partum*, la inoculación de especies que persisten en el colon a través del tiempo parece ser influenciada por varios factores entre los que destaca el estilo de vida de la familia (49). Es muy posible que el establecimiento del microbioma gastrointestinal humano inicial pueda influenciar o determinar la salud del huésped en el largo plazo (50,51). Es importante citar discrepancias y desacuerdos sobre temas científicos para evitar la proliferación de dogmas que pueden, de una u otra manera, afectar al público general o fomentar investigación que asuma premisas no establecidas como ciertas. En una revisión prolija sobre los primeros microbios que colonizan el intestino humano, Milani y colaboradores (52) dicen (traducción): “*El desarrollo y maduración de la microbiota intestinal constituye un proceso dinámico que no es estocástico, en el cual ocurren interacciones positivas y negativas entre taxones clave.*” Si bien hay ciertas características del huésped y sus microbios que son fundamentales para el establecimiento del microbioma intestinal, es posible que interacciones al azar con elementos extrínsecos modulen significativamente la conformación del microbioma. El holobionte reacciona de acuerdo con su constitución, pero la interacción con una persona en tránsito o con un roedor infectado genera incertidumbre a los análisis estadísticos y dificultan los diagnósticos sobre cuadros gastroenterológicos.

Debido a la influencia potencial en la salud que puede tener el microbioma durante el resto de la vida del huésped, la colonización inicial (cuantitativa y cualitativamente) es de particular interés para los investigadores del campo de la salud (52). Es importante tener en cuenta que las especies que conforman la microbiota pueden ser residentes (autóctonas) o transitorias (alóctonas) y que su relación con el huésped va desde la simbiosis hasta el comensalismo y el parasitismo dependiendo de las condiciones prevalecientes en el sistema gastrointestinal. En la publicación clásica de Gibson y

Roberfroid (53) en la que introducen el concepto de “probióticos”, los autores enfatizan que componentes de la microbiota habitual como miembros del género *Escherichia*, pueden ser nocivos para la salud cuando proliferan en exceso o dependiendo de la proliferación de otros géneros y especies. El caso de *C. difficile* explicado anteriormente es un ejemplo de microbioma que pierde el balance o la “eubiosis”. A continuación, se presenta una lista de factores que afectan la composición del microbioma infantil antes, durante y después del parto:

- ◆ Microbioma materno
- ◆ Estrés materno
- ◆ Uso de antibióticos por la madre
- ◆ Si el bebé es prematuro o no
- ◆ Si el parto es por cesárea o natural
- ◆ Alimentación a través de leche materna o fórmula infantil
- ◆ Contenido de prebióticos o probióticos de la fórmula infantil
- ◆ Dieta de la madre
- ◆ La presencia o ausencia de animales en la casa o su cercanía
- ◆ La dieta en el hogar
- ◆ La presencia de niños en el hogar
- ◆ El nivel socioeconómico del hogar
- ◆ Situación geográfica y clima
- ◆ Estancia hospitalaria
- ◆ La constitución genética del huésped
- ◆ La época del año del nacimiento

De estos factores, dos necesitan explicación, pues son frecuentemente ignorados en discusiones sobre lactancia y bienestar infantil. El primero es el efecto de la expresión de productos genéticos secundarios codificados en el genoma materno o el genoma infantil y el segundo es el efecto de la época del año en que nace un infante.

Existen muchos factores determinados genéticamente que pueden definir la naturaleza de la colonización o la causa de disbiosis y enfermedad. Uno de estos factores es la presencia de estructuras de hidratos de carbono en las superficies celulares del huésped. El más conocido sistema de determinantes antigénicos basados en estructuras de hidratos de carbono en las superficies celulares es el Sistema ABO. Hay otros grupos histo-sanguíneos que también se basan en carbohidratos antigénicos, entre ellos los sistemas Lewis y Secretor son de los más conocidos. Hay dos formas principales en las que un grupo sanguíneo puede afectar la colonización. El primero tiene que ver con la habilidad del cuerpo humano de producir anticuerpos contra aloantígenos (54). Un ejemplo sería una bacteria cuyos lipopolisacáridos están decorados con antígenos sanguíneos humanos. En estos casos, anticuerpos del huésped previenen la adhesión u otros pasos del proceso infeccioso o de colonización atacando a la bacteria. El segundo consiste en la habilidad que tienen ciertos microorganismos de adherirse a carbohidratos de superficie en células humanas mediante proteínas denominadas “adhesinas” (55). Por ejemplo, algunas cepas de *E. coli* se adhieren a células que portan antígenos del sistema ABO (56). En este caso el pertenecer a un grupo histo-antigénico resulta en mayor susceptibilidad a colonización o infección. En cuanto al efecto de las estaciones, Davis y cols. (57) describen que la leche de madres de Gambia contenía más oligosacáridos de noviembre a junio. Los bebés de estas madres tenían una microbiota diferente a los amamantados entre julio y octubre. La dependencia estacional de la composición del repertorio de oligosacáridos de la leche materna afectó la colonización primaria durante este estudio.

Es probable que otros factores influyan en la formación de la primer microbiota después del nacimiento, el cuerpo de evidencia científica que describe el microbioma gastrointestinal humano en detalle taxonómico y bioquímico está todavía en su etapa de desarrollo inicial y las tecnologías utilizadas para estudiar y describir el microbioma apenas se están estandarizando entre los investigadores del

campo. Hay ciertas generalizaciones sobre el microbioma inicial que se pueden hacer con base en reportes de estudios clínicos. Por ejemplo, la flora inicial está compuesta de los siguientes géneros de acuerdo con las circunstancias que les anteceden en la siguiente lista:

- ◆ En bebés pretérmino la microbiota es menos diversa que en bebés no prematuros. También tienen una colonización relativamente más alta por bacterias que son potencialmente patógenas como las que pertenecen a la familia Enterobacteriácea (58)
- ◆ Bebés amamantados con leche materna, generalmente tienen concentraciones más altas de Bifidobacteria que los alimentados exclusivamente con fórmulas infantiles (59). Una excepción son los infantes alimentados con fórmulas que contienen el oligosacárido 2’fucosyllactosa (2’FL) quienes tienen concentraciones de bifidobacteria más parecidas a las de los infantes amamantados.
- ◆ Bebés amamantados con leche de madres que pertenecen al grupo histo-sanguíneo “Secretor” (Se o se+) tienen concentraciones más altas de bifidobacteria en las heces fecales y su estado de salud es generalmente mejor (60). Coincidentemente, estas madres producen 2’FL en sus glándulas mamarias.

Como se verá posteriormente en este escrito, la colonización del intestino infantil tiene consecuencias importantes para el resto de la vida (49). En términos generales el estilo de vida (industrializado, tradicional o no industrializado) tiene un efecto muy importante en el microbioma temprano, siendo la diferencia más importante la dominancia de bifidobacteria en el microbioma infantil respecto al de etapas posteriores. Al comienzo de la vida el microbioma tiende a ser más homogéneo y variar poco a través del tiempo. Por otro lado, desde el período perinatal el microbioma -en países no industrializados- es marginalmente más variado y posteriormente significativamente más diverso (61). Las va-

riaciones más notables ocurren hasta los 6 meses, se acentúan a los 30 meses y continúan en la edad adulta. El impacto de la cultura y el grado de industrialización en el establecimiento del microbioma infantil se resalta en el estudio de Olm y sus colaboradores (49), en el cual encontraron especies nuevas en la microbiota fetal de los Hazda, un grupo moderno de cazadores-recolectores del África Sub-Sahariana. Este hallazgo alerta sobre extrapolaciones a través de culturas y latitudes, aunque aún no conocemos especies habituales de todos los ecosistemas habitados por humanos. La pregunta obligada es ¿Por qué es importante estudiar la variedad en el microbioma infantil y las distintas vías de colonización microbiana? Una respuesta es: por su influencia en estados de salud y enfermedad por el resto de la vida.

Debido a que no hay suficientes estudios que describan la composición del microbioma desde el nacimiento hasta la edad adulta y que correlacionen dicho microbioma con estados de salud o enfermedad, los investigadores han apelado a otro tipo de evidencia para correlacionar estas dos variables complejas. Dos campos llaman la atención cuando se investiga la literatura relevante: Desarrollo del sistema nervioso central y respuestas del sistema inmune. Shiro Tochitani (62) y Sudo y cols. (63) describen cómo factores ambientales que afectan la composición del microbioma pueden incidir en el desarrollo cerebral. Una de las líneas de evidencia descritas en esas publicaciones, muestra que cuando se sometían ratones libres de gérmenes (RLG) y ratones control a estrés por restricción de movimientos, los primeros mostraban niveles de corticosterona más elevados. La respuesta al estrés se atenuaba cuando se inoculaba a los RLG con *Bifidobacterium infantis*. Similarmente, se ha estudiado la influencia de metabolitos bacterianos como son los ácidos grasos de cadena corta que pueden tener influencia en la consolidación de la barrera sanguíneo-cerebral. Yano y colaboradores (64) demostraron que bacterias formadoras de esporas que son autóctonas para los humanos y los ratones, secretan metabolitos que inducen la elevación de 5-hydroxyptamina (serotonina) por células enterocromafines. Los hallazgos descritos en esa

publicación indican que la microbiota puede jugar un papel muy importante en el desarrollo del sistema nervioso en general.

Ya se ha discutido en este escrito sobre la importancia de la exposición temprana a bacterias benéficas y la subsecuente tolerancia por parte del sistema inmune. Ésta, permite la colonización de microbios aliados y según algunos investigadores, su internalización y translocación desde el intestino materno hacia la glándula mamaria y tal vez hacia la placenta y tejidos fetales. Peter Brodin (50) indica que la ventana de tiempo para desarrollar tolerancia es importante durante los primeros 100 días de vida. Esta ventana se determina por el riesgo incremental de presentar atopía relacionada con disminución en el microbioma de los géneros bacterianos *Lachnospira* y *Veillonella*, entre otros (65). Los riesgos de asma y eczema parecen estar inversamente relacionados con la producción de butirato y otros metabolitos del microbioma.

Pareciese que los infantes que son sometidos a tratamiento con antibióticos, que nacen por cesárea o cuyas madres son tratadas con antibióticos, están irremisiblemente condenados a padecer disbiosis, pero no es así. Hay formas de restaurar el microbioma, aunque algunas están todavía en etapa experimental. Uno de estos métodos en estado de exploración conceptual es propuesto por Korpela y colaboradores (66). Este grupo de investigadores efectuó trasplantes fecales maternos en infantes nacidos por cesárea, encontrando que su microbiota intestinal se restauraba y se hacía similar a la de infantes nacidos a través del canal vaginal. Adicionalmente, se puede restaurar parcialmente el microbioma utilizando probióticos, prebióticos y simbióticos (67). En adultos, el efecto de modificación del microbioma intestinal parece ser transitorio, aun cuando genere beneficios medibles en la salud del huésped (68).

Edad adulta

La importancia de la microbiota que se establece de manera temprana durante la infancia es enfatizada

por una frase de Olm y sus colaboradores (49): “El microbioma intestinal humano experimenta un complejo proceso de ensamble que empieza inmediatamente después del nacimiento (Yatsunenko et al., 2012 (69)). *Los microbios que intentan transplantarse dentro de esta comunidad frecuentemente dependen de nichos establecidos por especies que han colonizado el intestino previamente, por lo que la composición del microbioma en el adulto depende de las especies adquiridas en la infancia.*” Esto añade un grado de complejidad al microbioma intestinal pues aun cuando el organismo se exponga a nuevas especies, hay una capacidad limitada para integrarlas al microbioma establecido. Aun así, el microbioma del adulto es más diverso en países donde domina la cultura tradicional o ancestral en comparación con los países industrializados. En estos últimos, las especies del microbioma permanecen con una variabilidad menor por el resto de la vida adulta.

Algunos de los cambios en el microbioma durante la transición de la infancia hacia la adolescencia y al estado adulto ocurren con especies que se intercambian por otras del mismo género. Por ejemplo, de *Bifidobacterium infantis* y *B. breve* en la infancia a *B. adolescentis* y *B. longum* en la edad adulta. Dado que estamos hablando sobre el microbioma (que incluye la genética, bioquímica y componente abiótico), los cambios en el mismo pueden referirse a actividades enzimáticas representativas de la actividad metabólica de la microbiota o de un subgrupo de esta. Un ejemplo es la actividad total de ureasa (EC3.5.1.5) que es abundante en el microbioma infantil de amerindios y que disminuye notablemente en el adulto (69). De acuerdo con el mismo artículo, en la población de Estados Unidos esta actividad es baja en la infancia y permanece baja en la edad adulta. Otras actividades enzimáticas que resultan en la producción de ácidos grasos de cadena corta y otros metabolitos, disminuyen con la edad. Los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) son productos de fermentación de componentes de la microbiota que ejemplifican cambios que ocurren en edad avanzada. El butirato liberado en el colon ayuda a mantener un pH bajo que a su vez controla la expansión de bacterias patógenas y putrefactivas junto con los ácidos láctico, acé-

tico y propiónico producidos por otras especies. Los AGCC también acceden a la circulación sistémica en donde pueden incidir en funciones como proliferación celular, apoptosis y la inhibición de producción de moléculas proinflamatorias (70).

El estudio de composición y el desempeño del microbioma en adultos y personas de edad avanzada se ha enfocado recientemente en tres grandes áreas: Inflamación, cáncer y el “eje” intestino-cerebro (*gut-brain axis*). En el primero de estos campos de estudio, no es difícil visualizar que el microbioma está en un delicado balance entre la tolerancia y la inflamación y que de perderse tal equilibrio se puede generar un estado de disbiosis e inflamación. En los primeros párrafos de este escrito se describe la inducción de la tolerancia inmunológica del cuerpo humano hacia bacterias simbióticas benéficas, en estos últimos párrafos toca discernir el papel de la senescencia del microbioma y su relación con los humanos senescentes. En un artículo de trascendencia, Seth Rakoff-Nahoum y sus colaboradores (71) describen el papel de los Receptores Tipo Toll (*toll-like receptors*) y su habilidad de discriminar entre patógenos y comensales debido a que los comensales tienen acceso limitado a estos receptores. Mangiola y colaboradores (70) resumen el estado “normal” del intestino como una inflamación contenida de baja intensidad que se resuelve en un estado inflamatorio mayor durante la disbiosis. No es de extrañar que el papel del microbioma intestinal en inflamaciones gastrointestinales esté siendo estudiado intensivamente. En estudios in vivo se ha podido restablecer el balance Th17/ROR γ T+ / Células T regulatorias después de inoculación con microbiotas promotoras de la enfermedad inflamatoria intestinal (72).

En la literatura científica abundan referencias que relacionan o implican al microbioma intestinal con el desarrollo de tumores malignos o con tratamientos y terapias. Ejemplos de publicaciones en este campo son Garret (73), Dzutsev (74) y Buchta Rosean y cols. , (75). Al respecto, dos áreas principales son importantes para la medicina contemporánea: Una de ellas es la importancia de mantener la fun-

ción de los linfocitos T y no disminuir la producción de interferón, factores de necrosis tumoral y finalmente la habilidad de los linfocitos T de matar células malignas durante inmunoterapia. En los últimos cinco años se ha masificado la distribución de anticuerpos monoclonales para el tratamiento del cáncer en los sistemas de salud de ciertos países. La terapia con anticuerpos contrasta con la quimioterapia tradicional puesto que la primera requiere de un sistema inmune intacto, mientras que la segunda ataca células en reproducción, incluyendo las del sistema inmune. La optimización del microbioma para apoyar la inmunoterapia oncológica está adquiriendo importancia concomitante con la introducción de dichos anticuerpos. La segunda área de estudio es el papel de la microbiota en la carcinogénesis (76). Se puede asumir con cierta confianza que los estados prolongados de inflamación propician la formación de radicales libres, estos a su vez pueden alterar el ADN de una u otra manera, y estas alternaciones pueden, a su vez, desembocar en cáncer. (77).

Finalmente, la relación aferente y eferente entre el sistema gastrointestinal y el sistema nervioso central es un tema de estudio que ocupa a varios grupos de investigadores básicos y clínicos. Leo Galland (78) divide las áreas de interacción potencial de la microbiota con el sistema nervioso central como sigue:

- ◆ Mecanismos inmunológicos
- ◆ Mecanismos bioquímicos
- ◆ Mecanismos Neuroendocrinos
- ◆ Dieta y el Microbioma

Uno de los fundamentos de esta relación es el papel de neurotransmisores en la comunicación entre el microbioma y el sistema nervioso. Phillip Strandwitz (79) hace una revisión prolija de la modulación de neurotransmisores por la acción de la microbiota. Los siguientes neurotransmisores o afectan el crecimiento de ciertas especies de bacterias o son sintetizados por componentes de la microbiota: áci-

do gama aminobutírico (GABA), dopamina, norepinefrina y serotonina. La interacción se puede dar a través de moléculas efectoras (neurotransmisores) o de la síntesis de sus precursores. El descubrimiento de cepas de lactobacilos que producen GABA puede resultar en una aplicación de la modulación del microbioma con fines médicos a pesar de que dicha cepa ocurre naturalmente (79). Es importante notar que una aplicación ideal de los probióticos es restaurar, aunque sea transitoriamente, una microbiota conducente a la eubiosis.

La **Tabla 2** resume información sobre neurotransmisores producidos o modulados por elementos de la microbiota intestinal. Existen estudios sobre el efecto de probióticos en estados de depresión (80), esteatosis hepática (81), inflamación crónica en pacientes obesos con Diabetes tipo 2 (82) y otros estados y enfermedades. Esto indica que la relación entre los humanos y su microbioma intestinal es dinámica y que los residentes del intestino en un momento de la vida no representan una situación fatal sobre la que no se pueda intervenir. Si algo está claro dentro de la complejidad de los humanos y su microbioma es que nos afectamos mutuamente y que nuestros destinos están ligados. Tanto nuestro comportamiento como nuestros hábitos y la composición del microbioma se pueden cambiar.

Epílogo

Emitir notas precautorias en ausencia de datos específicos puede ser aventurado. Sin embargo, en un campo de estudio en expansión tan rápida como la que experimentan la microbiota y el microbioma humanos, vale la pena tener mesura intelectual para evitar extrapolaciones con fundamentos débiles. Es esencial en el método científico el determinar si la relación entre dos o más variables es causal o si existe una correlación originada por factores no considerados o extrínsecos a un análisis dado. El estudio del microbioma no está exento de emitir tales extrapolaciones. Las relaciones entre inflamación y el microbioma, entre cáncer y especies de la microbiota, entre metabolitos bacterianos y la ausencia de depre-

Neurotransmisor	Efecto en humanos	Papeles de los microbios
Dopamina	Modula el comportamiento motivado por recompensas	Incrementan tasa de crecimiento en su presencia <i>E. Coli</i> O157:H7 (EHEC) <i>E. limosum</i> . Rich y cols. (83) <i>B. prducta</i> . Rich y cols. (83)
Norepinefrina	Excitación, estado de alerta, concentración	Incrementan tasa de crecimiento en su presencia <i>E. Coli</i> O157:H7 (EHEC) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterobacter Cloacae</i> <i>Shigella sonnei</i> <i>Staphylococcus aureus</i> Producen in vitro <i>E. Coli</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Serratia Marcensces</i> <i>Bacillus Subtilis</i> <i>Bacillus Mycoides</i>
Serotonina	Secreciones gastrointestinales, respiración, vasoconstricción y otras	Promoción de síntesis de serotonina en el huésped Microorganismos productores de esporas Microbioma nativo en ratones. Yano y cols. (64)

Tabla 2. Neurotransmisores Relacionados con La Microbiota.

Datos obtenidos de Strandwitz (79) salvo cuando se indique en la tabla.

sión y otras comentadas en este escrito, aún carecen de evidencia para determinar si son causa o efecto. El proverbial dilema de la gallina y el huevo se aplica a los estudios del microbioma y su relación con estrés o autismo. ¿Es una microbiota “defectuosa” responsable de la tendencia al estrés o son episodios frecuentes de estrés responsables de su composición?

En este sentido llama la atención una publicación en el prestigioso portafolio de la casa editorial *Nature*, cuya traducción de su título es: “Perfiles de microbioma y metaboloma de una cohorte de estudiantes universitarios con tiempos altos de

exposición a pantallas” (84). En este estudio se clasificaron estudiantes como *High Screen Time* (≥ 75 min / d) y *Low Screen Time* (0-75 min / d) Esta es la traducción de una de sus conclusiones: “Los perfiles taxonómicos del microbioma, pero no su diversidad total, difirieron modestamente entre las clasificaciones de tiempo de pantalla. De hecho, se encontró que varios microbios asociados con [un estado de] salud tales como *Bacteroides*, *Akkermansia*, *Alistipes*, *Ruminococcus*, *Sutterella*, *Oscillospira* y *Methanobrevibacter* estaban asociados con tiempo de pantalla bajo, aun después de considerar activi-

dad física, sexo, Índice de Masa Corporal y edad. Este hallazgo sugiere que las diferencias composicionales [del microbioma] tienen su base en el tiempo de pantalla diario". Si bien ciertos hallazgos pueden ser reveladores, es importante discernir entre hallazgos correlativos y hallazgos que expliquen causalidad a nivel molecular. En justicia, el artículo de Jasbi y sus colaboradores es muy complejo y utiliza correlaciones con componentes del metaboloma integrando información sobre sus niveles y el tiempo de pantalla. Aun así, la proliferación de publicaciones y mercadotecnia sobre las relaciones del microbioma y la salud humana hacen difícil elucidar variables que ameritan pesquisas adicionales en beneficio de la salud humana.

El presente escrito considera algunos aspectos del microbioma humano con relativa superficialidad. Su objetivo es servir como catálogo de referencia, dosificado a través de una narrativa simple. Como cualquier catálogo cumplirá su función si es utilizado para alentar la profundización en temas específicos. Al iniciar su escritura me debatí entre enfocarme en las tecnologías utilizadas para estudiar el microbioma (genómica, metabolómica, metagenómica, *hibridación in situ*, etc.) o narrar los aspectos biológicos que configuran el entorno de su estudio. El mismo debate interno me ha asediado por más de cuarenta años de trabajo en el estudio de la glicobiología de la leche humana. Como sucede frecuentemente, ganó la biología.

Recomiendo los trabajos de Boudar y cols. (85) para explorar en detalle los métodos de la metagenómica aplicados al microbioma intestinal humano y el trabajo de Clavel y sus colaboradores (86) para revisar los avances tecnológicos relevantes de los últimos 15 años en investigación del microbioma. Para quienes desean profundizar en los avances en secuenciación genética el artículo de Wensel y cols. (87) puede ser de utilidad. Por último, si el lector está en busca de un volumen que abarque desde la asociación primordial entre una bacteria y una célula para formar un eucariota hasta el microbioma humano, recomiendo el libro de Ángela Elizabeth Douglas: *Fundamentals of Microbiome*

Science: How Microbes Shape Animal Biology, publicado por la Universidad de Princeton (88). Éste se lee como una novela en la cual todos somos participantes. En el análisis final, el microbioma es un invitado especial que habita dentro de nosotros y que nos acompaña durante la escritura de nuestras propias novelas biológicas.

Conflictos de interés

El Dr. Pedro Prieto es asesor de las siguientes empresas en el campo de la nutrición humana: Bobbie (Estados Unidos), Boydorr y Alpina.

Financiación

No recibió financiación alguna para este trabajo.

Referencias

1. Kelly P, Alderton G, Scanlon ST, Ash C. A multiplicity of microbiomes. *Science*. 2022;376(6596):932-933. doi: 10.1126/science.adc9690.
2. Lederberg, J., & Mccray, A. (2001). 'Ome Sweet 'Omics-- A Genealogical Treasury of Words - The Scientist - Magazine of the Life Sciences. *The Scientist*;15(7): 8
3. Marchesi JR, Ravel J. The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*. 2015;3:31. doi: 10.1186/s40168-015-0094-5.
4. Prescott, S. *History of Medicine: Origin of the Term Microbiome and Why it Matters*. *Human Microbiome Journal*. 2017;(4):24-25
5. Berg G, Rybakova D, Fischer D, Cernava T, Vergès MC, Charles T, Chen X, et al. Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*. 30;8(1):103. doi: 10.1186/s40168-020-00875-0.
6. Whipps J, Lewis K, Cooke R. Mycoparasitism and plant disease control. In: Burge M, editor. *Fungi Biol Control Syst*. Manchester University Press; 1988. p. 161-187.
7. Chen F, Dai X, Zhou CC, Li KX, Zhang YJ, Lou XY, Zhu YM, Sun YL, Peng BX, Cui W. Integrated analysis of the faecal metagenome and serum metabolome reveals the role of gut microbiome-associated metabolites in the detection of colorectal cancer and adenoma. *Gut*. 2022;71(7):1315-1325. doi: 10.1136/gut-jnl-2020-323476.

8. Carrier TJ, Maldonado M, Schmittmann L, Pita L, Bosch TCG, Hentschel U. Symbiont transmission in marine sponges: reproduction, development, and metamorphosis. *BMC Biol.* 2022;20(1):100. doi: 10.1186/s12915-022-01291-6.
9. Pita L, Rix L, Slaby BM, Franke A, Hentschel U. The sponge holobiont in a changing ocean: from microbes to ecosystems. *Microbiome.* 2018;6(1):46. doi: 10.1186/s40168-018-0428-1.
10. Simon JC, Marchesi JR, Mougél C, Selosse MA. Host-microbiota interactions: from holobiont theory to analysis. *Microbiome.* 2019;7(1):5. doi: 10.1186/s40168-019-0619-4.
11. Daniel N, Lécuyer E, Chassaing B. Host/microbiota interactions in health and diseases-Time for mucosal microbiology! *Mucosal Immunol.* 2021;14(5):1006-1016. doi: 10.1038/s41385-021-00383-w.
12. Simon GL, Gorbach SL. Intestinal flora in health and disease. *Gastroenterology.* 1984;86(1):174-93.
13. Azimi M, Keshavarz Shahbaz S, Mansourabadi AH, Mohamed Khosroshahi L, Pourkalhor S, Rezakhani M, Masoumi F. Intestinal Microbiota: Novel Personalized Cancer Immunotherapy in Colorectal Cancer. *Int Arch Allergy Immunol.* 2022;183(11):1147-1165. Doi: 10.1159/000525695.
14. T Liu Y, Cheuk-Hay Lau H, Cheng WY, Yu J. Gut microbiome in colorectal cancer: Clinical diagnosis and treatment. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2022;S1672-0229(22)00086-9. Doi: 10.1016/j.gpb.2022.07.002.
15. Thye AY, Law JW, Tan LT, Thurairajasingam S, Chan KG, Letchumanan V, Lee LH. Exploring the Gut Microbiome in Myasthenia Gravis. *Nutrients.* 2022;14(8):1647. doi: 10.3390/nu14081647.
16. Alharthi A, Alhazmi S, Alburae N, Bahieldin A. The Human Gut Microbiome as a Potential Factor in Autism Spectrum Disorder. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3):1363. doi: 10.3390/ijms23031363.
17. Sharon G, Cruz NJ, Kang DW, Gandal MJ, Wang B, Kim YM, et al. Human Gut Microbiota from Autism Spectrum Disorder Promote Behavioral Symptoms in Mice. *Cell.* 2019;177(6):1600-1618.e17. doi: 10.1016/j.cell.2019.05.004.
18. Phanchana M, Harnvoravongchai P, Wongkuna S, Phetruen T, Phothichaisri W, Panturat S, et al. Frontiers in antibiotic alternatives for *Clostridioides difficile* infection. *World J Gastroenterol.* 2021;27(42):7210-7232. doi: 10.3748/wjg.v27.i42.7210.
19. Vasilescu IM, Chifiriuc MC, Pircalabioru GG, Filip R, Bolocan A, Lazăr V, et al. Gut Dysbiosis and *Clostridioides difficile* Infection in Neonates and Adults. *Front Microbiol.* 2022;12:651081. doi: 10.3389/fmicb.2021.651081.
20. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11(8):506-14. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66.
21. Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2017;14(8):491-502. doi: 10.1038/nrgastro.2017.75.
22. Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R, Reimer RA, Reid G, Verbeke K, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020;17(11):687-701. doi: 10.1038/s41575-020-0344-2.
23. Salminen S, Collado MC, Endo A, Hill C, Lebeer S, Quigley EMM, et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021;18(9):649-667. doi: 10.1038/s41575-021-00440-6. Erratum in: *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2021;: Erratum in: *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2022;19(8):551.
24. McGovern N, Shin A, Low G, Low D, Duan K, Yao LJ, et al. Human fetal dendritic cells promote prenatal T-cell immune suppression through arginase-2. *Nature.* 2017;546(7660):662-666. doi: 10.1038/nature22795.
25. Mishra A, Lai GC, Yao LJ, Aung TT, Shental N, Rottner-Maskowitz A, et al. Microbial exposure during early human development primes fetal immune cells. *Cell.* 2021;184(13):3394-3409.e20. doi: 10.1016/j.cell.2021.04.039.
26. Mold JE, Michaëlsson J, Burt TD, Muench MO, Beckerman KP, Busch MP, et al. Maternal alloantigens promote the development of tolerogenic fetal regulatory T cells in utero. *Science.* 2008;322(5907):1562-5. doi: 10.1126/science.1164511.
27. Claas FH, Gijbels Y, van der Velden-de Munck J, van Rood JJ. Induction of B cell unresponsiveness to noninherited maternal HLA antigens during fetal life. *Science.* 1988;241(4874):1815-7. doi: 10.1126/science.3051377.

28. Rackaityte E, Halkias J. Mechanisms of Fetal T Cell Tolerance and Immune Regulation. *Front Immunol.* 2020;11:588. doi: 10.3389/fimmu.2020.00588.
29. Hosang L, Canals RC, van der Flier FJ, Hollensteiner J, Daniel R, Flügel A, et al. The lung microbiome regulates brain autoimmunity. *Nature.* 2022;603(7899):138-144. doi: 10.1038/s41586-022-04427-4.
30. Castillo DJ, Rifkin RF, Cowan DA, Potgieter M. The Healthy Human Blood Microbiome: Fact or Fiction? *Front Cell Infect Microbiol.* 2019;9:148. doi: 10.3389/fcimb.2019.00148.
31. Tedeschi GG, Amici D, Paparelli M. Incorporation of nucleosides and amino-acids in human erythrocyte suspensions: possible relation with a diffuse infection of mycoplasmas or bacteria in the L form. *Nature.* 1969;222(5200):1285-6. doi: 10.1038/2221285a0
32. Silverstein RB, Mysorekar IU. Group therapy on in utero colonization: seeking common truths and a way forward. *Microbiome.* 2021;9(1):7. doi: 10.1186/s40168-020-00968-w.
33. Parker EL, Silverstein RB, Mysorekar IU. Bacteria make T cell memories in utero. *Cell.* 2021;184(13):3356-3357. doi: 10.1016/j.cell.2021.05.044.
34. He Q, Kwok LY, Xi X, Zhong Z, Ma T, Xu H, et al. The meconium microbiota shares more features with the amniotic fluid microbiota than the maternal fecal and vaginal microbiota. *Gut Microbes.* 2020;12(1):1794266. doi: 10.1080/19490976.2020.1794266.
35. Dos Santos SJ, Pakzad Z, Elwood CN, Albert AYK, Gantt S, Manges AR, et al. Early Neonatal Meconium Does Not Have a Demonstrable Microbiota Determined through Use of Robust Negative Controls with cpn60-Based Microbiome Profiling. *Microbiol Spectr.* 2021;9(2):e0006721. doi: 10.1128/Spectrum.00067-21.
36. Kennedy KM, Gerlach MJ, Adam T, Heimesaat MM, Rossi L, Surette MG, et al. Fetal meconium does not have a detectable microbiota before birth. *Nat Microbiol.* 2021;6(7):865-873. doi: 10.1038/s41564-021-00904-0.
37. Consales A, Cerasani J, Sorrentino G, Morniroli D, Colombo L, Mosca F, et al. The hidden universe of human milk microbiome: origin, composition, determinants, role, and future perspectives. *Eur J Pediatr.* 2022;181(5):1811-1820. doi: 10.1007/s00431-022-04383-1.
38. Fernández L, Rodríguez JM. Human Milk Microbiota: Origin and Potential Uses. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser.* 2020;94:75-85. doi: 10.1159/000505031.
39. Fernández L, Pannaraj PS, Rautava S, Rodríguez JM. The Microbiota of the Human Mammary Ecosystem. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:586667. doi: 10.3389/fcimb.2020.586667.
40. Rodríguez JM. The origin of human milk bacteria: is there a bacterial entero-mammary pathway during late pregnancy and lactation? *Adv Nutr.* 2014;5(6):779-84. doi: 10.3945/an.114.007229.
41. Greiner LL, Humphrey DC, Holland SN, Anderson CJ, Schmitz-Esser S. The validation of the existence of the entero-mammary pathway and the assessment of the differences of the pathway between first and third parity sows. *Transl Anim Sci.* 2022;6(2):txac047. doi: 10.1093/tas/txac047.
42. Juárez-Castelán CJ, Vélez-Ixta JM, Corona-Cervantes K, Piña-Escobedo A, Cruz-Narváez Y, Hinojosa-Velasco A, et al. The Entero-Mammary Pathway and Perinatal Transmission of Gut Microbiota and SARS-CoV-2. *Int J Mol Sci.* 2022;23(18):10306. doi: 10.3390/ijms231810306.
43. Espinosa RM, Taméz M, Prieto P. Efforts to emulate human milk oligosaccharides. *Br J Nutr.* 2007;98 Suppl 1:S74-9. doi: 10.1017/S0007114507838062.
44. Prieto PA. Profiles of human milk oligosaccharides and production of some human milk oligosaccharides in transgenic animals. *Adv Nutr.* 2012;3(3):456S-64S. doi: 10.3945/an.111.001529.
45. German JB, Freeman SL, Lebrilla CB, Mills DA. Human milk oligosaccharides: evolution, structures and bioselectivity as substrates for intestinal bacteria. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program.* 2008;62:205-18; discussion 218-22. doi: 10.1159/000146322.
46. Treven P, Mrak V, Bogovič Matijašić B, Horvat S, Rogelj I. Administration of probiotics *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus gasseri* K7 during pregnancy and lactation changes mouse mesenteric lymph nodes and mammary gland microbiota. *J Dairy Sci.* 2015;98(4):2114-28. doi: 10.3168/jds.2014-8519.
47. Jost B, Vilotte JL, Duluc I, Rodeau JL, Freund JN. Production of low-lactose milk by ectopic expression of intestinal lactase in the mouse mammary gland. *Nat Biotechnol.* 1999;17(2):160-4. doi: 10.1038/6158.
48. Prieto PA, Mukerji P, Kelder B, Erney R, Gonzalez D, Yun JS, et al. Remodeling of mouse milk glycoconjugates by transgenic expression of a human glycosyltransferase. *J Biol Chem.* 1995;270(49):29515-9. doi: 10.1074/jbc.270.49.29515.
49. Olm MR, Dahan D, Carter MM, Merrill BD, Yu FB, Jain S, et al. Robust variation in infant gut microbiome assembly across a spectrum of lifestyles. *Science.* 2022;376(6598):1220-1223. doi: 10.1126/science.abj2972.
50. Brodin P. Immune-microbe interactions early in life: A determinant of health and disease long term. *Science.* 2022;376(6596):945-950. doi: 10.1126/science.abk2189.

51. Kalbermatter C, Fernandez Trigo N, Christensen S, Ganai-Vonarburg SC. Maternal Microbiota, Early Life Colonization and Breast Milk Drive Immune Development in the Newborn. *Front Immunol.* 2021;12:683022. doi: 10.3389/fimmu.2021.683022.
52. Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turrone F, Mahony J, et al. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2017;81(4):e00036-17. doi: 10.1128/MMBR.00036-17.
53. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J Nutr.* 1995;125(6):1401-12. doi: 10.1093/jn/125.6.1401.
54. Tran ENH, Day CJ, Poole J, Jennings MP, Morona R. Specific blood group antibodies inhibit *Shigella flexneri* interaction with human cells in the absence of spinoculation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020;521(1):131-136. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.10.091.
55. Lewis AL, Kohler JJ, Aebi M. Microbial Lectins: Hemagglutinins, Adhesins, and Toxins. En: Varki A, Cummings RD, Esko JD, Stanley P, Hart GW, Aebi M, et al editors. *Essentials of Glycobiology*. 4th ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2022. Chapter 37.
56. Le Bouguéne C, Lalioui L, du Merle L, Jouve M, Courcoux P, Bouzari S, Selvarangan R, Nowicki BJ, Germani Y, Andremont A, Gounon P, Garcia MI. Characterization of AfaE adhesins produced by extraintestinal and intestinal human *Escherichia coli* isolates: PCR assays for detection of Afa adhesins that do or do not recognize Dr blood group antigens. *J Clin Microbiol.* 2001;39(5):1738-45. doi: 10.1128/JCM.39.5.1738-1745.2001.
57. Davis JC, Lewis ZT, Krishnan S, Bernstein RM, Moore SE, Prentice AM, et al. Growth and Morbidity of Gambian Infants are Influenced by Maternal Milk Oligosaccharides and Infant Gut Microbiota. *Sci Rep.* 2017;7:40466. doi: 10.1038/srep40466.
58. Vandenplas Y, Carnielli VP, Ksiazek J, Luna MS, Migacheva N, Mosselmans JM, et al. Factors affecting early-life intestinal microbiota development. *Nutrition.* 2020 Oct;78:110812. doi: 10.1016/j.nut.2020.110812.
59. Ficara M, Pietrella E, Spada C, Della Casa Mutti E, Lucaccioni L, Iughetti L, Berardi A. Changes of intestinal microbiota in early life. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020;33(6):1036-1043. doi: 10.1080/14767058.2018.1506760.
60. Hegar B, Wibowo Y, Basrowi RW, Ranuh RG, Sudarmo SM, Munasir Z, et al. The Role of Two Human Milk Oligosaccharides, 2'-Fucosyllactose and Lacto-N-Neotetraose, in Infant Nutrition. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2019;22(4):330-340. doi: 10.5223/pghn.2019.22.4.330.
61. Fragiadakis GK, Smits SA, Sonnenburg ED, Van Treuren W, Reid G, Knight R, et al. Links between environment, diet, and the hunter-gatherer microbiome. *Gut Microbes.* 2019;10(2):216-227. doi: 10.1080/19490976.2018.1494103.
62. Tochitani S. Vertical transmission of gut microbiota: Points of action of environmental factors influencing brain development. *Neurosci Res.* 2021 Jul;168:83-94. doi: 10.1016/j.neures.2020.11.006.
63. Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu XN, et al. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J Physiol.* 2004;558(Pt 1):263-75. doi: 10.1113/jphysiol.2004.063388.
64. Yano JM, Yu K, Donaldson GP, Shastrri GG, Ann P, Ma L, et al. Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell.* 2015 Apr 9;161(2):264-76. doi: 10.1016/j.cell.2015.02.047. Erratum in: *Cell.* 2015 Sep 24;163:258. PMID: 25860609; PMCID: PMC4393509.
65. Arrieta MC, Stiemsma LT, Dimitriu PA, Thorson L, Russell S, Yurist-Doutsch S, et al. Early infancy microbial and metabolic alterations affect risk of childhood asthma. *Sci Transl Med.* 2015;7(307):307ra152. doi: 10.1126/scitranslmed.aab2271.
66. Korpela K, Helve O, Kolho KL, Saisto T, Skogberg K, Dikareva E, et al. Maternal Fecal Microbiota Transplantation in Cesarean-Born Infants Rapidly Restores Normal Gut Microbial Development: A Proof-of-Concept Study. *Cell.* 2020;183(2):324-334.e5. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.047.
67. Martín-Peláez S, Cano-Ibáñez N, Pinto-Gallardo M, Amezcua-Prieto C. The Impact of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics during Pregnancy or Lactation on the Intestinal Microbiota of Children Born by Cesarean Section: A Systematic Review. *Nutrients.* 2022;14(2):341. doi: 10.3390/nu14020341.
68. Khalesi S, Bellissimo N, Vandelanotte C, Williams S, Stanley D, Irwin C. A review of probiotic supplementation in healthy adults: helpful or hype? *Eur J Clin Nutr.* 2019;73(1):24-37. doi: 10.1038/s41430-018-0135-9.
69. Yatsunencko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature.* 2012;486(7402):222-7. doi: 10.1038/nature11053.

70. Mangiola F, Nicoletti A, Gasbarrini A, Ponziani FR. Gut microbiota and aging. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018;22(21):7404-7413. doi: 10.26355/eurrev_201811_16280.
71. Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell.* 2004;118(2):229-41. doi: 10.1016/j.cell.2004.07.002.
72. Britton GJ, Contijoch EJ, Spindler MP, Aggarwala V, Dogan B, Bongers G, et al. Defined microbiota transplant restores Th17/RORγt⁺ regulatory T cell balance in mice colonized with inflammatory bowel disease microbiotas. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020; 117(35):21536-21545. doi: 10.1073/pnas.1922189117.
73. Garrett WS. Cancer and the microbiota. *Science.* 2015;348(6230):80-6. doi: 10.1126/science.aaa4972.
74. Dzutsev A, Goldszmid RS, Viaud S, Zitvogel L, Trinchieri G. The role of the microbiota in inflammation, carcinogenesis, and cancer therapy. *Eur J Immunol.* 2015;45(1):17-31. doi: 10.1002/eji.201444972.
75. Buchta Rosean C, Feng TY, Azar FN, Rutkowski MR. Impact of the microbiome on cancer progression and response to anti-cancer therapies. *Adv Cancer Res.* 2019;143:255-294. doi: 10.1016/bs.acr.2019.03.005.
76. Elinav E, Nowarski R, Thaiss CA, Hu B, Jin C, Flavell RA. Inflammation-induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat Rev Cancer.* 2013;13(11):759-71. doi: 10.1038/nrc3611.
77. Maher SG, Reynolds JV. Basic concepts of inflammation and its role in carcinogenesis. *Recent Results Cancer Res.* 2011;185:1-34. doi: 10.1007/978-3-642-03503-6_1.
78. Galland L. The gut microbiome and the brain. *J Med Food.* 2014;17(12):1261-72. doi: 10.1089/jmf.2014.7000.
79. Strandwitz P. Neurotransmitter modulation by the gut microbiota. *Brain Res.* 2018;1693(Pt B):128-133. doi: 10.1016/j.brainres.2018.03.015.
80. Kazemi A, Noorbala AA, Azam K, Eskandari MH, Djafarian K. Effect of probiotic and prebiotic vs placebo on psychological outcomes in patients with major depressive disorder: A randomized clinical trial. *Clin Nutr.* 2019;38(2):522-528. doi: 10.1016/j.clnu.2018.04.010.
81. Mohamad Nor MH, Ayob N, Mokhtar NM, Raja Ali RA, Tan GC, Wong Z, et al. The Effect of Probiotics (MCP® BCMC® Strains) on Hepatic Steatosis, Small Intestinal Mucosal Immune Function, and Intestinal Barrier in Patients with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Nutrients.* 2021;13(9):3192. doi: 10.3390/nu13093192.
82. Kanazawa A, Aida M, Yoshida Y, Kaga H, Katahira T, Suzuki L, et al. Effects of Synbiotic Supplementation on Chronic Inflammation and the Gut Microbiota in Obese Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Controlled Study. *Nutrients.* 2021;13(2):558. doi: 10.3390/nu13020558.
83. Rich BE, Jackson JC, de Ora LO, Long ZG, Uyeda KS, Bess EN. Alternative pathway for dopamine production by acetogenic gut bacteria that O-Demethylate 3-Methoxytyramine, a metabolite of catechol O-Methyltransferase. *J Appl Microbiol.* 2022;133(3):1697-1708. doi: 10.1111/jam.15682.
84. Jasbi P, Mohr AE, Shi X, Mahmood T, Zhu Q, Brueening M, et al. Microbiome and metabolome profiles of high screen time in a cohort of healthy college students. *Sci Rep.* 2022;12(1):3452. doi: 10.1038/s41598-022-07381-3.
85. Boudar Z, Sehli S, El Janahi S, Al Idrissi N, Hamdi S, Dini N, et al. Metagenomics Approaches to Investigate the Neonatal Gut Microbiome. *Front Pediatr.* 2022;10:886627. Doi: 10.3389/fped.2022.886627.
86. Clavel T, Horz HP, Segata N, Vehreschild M. Next steps after 15 stimulating years of human gut microbiome research. *Microb Biotechnol.* 2022;15(1):164-175. doi: 10.1111/1751-7915.13970.
87. Wensel CR, Pluznick JL, Salzberg SL, Sears CL. Next-generation sequencing: insights to advance clinical investigations of the microbiome. *J Clin Invest.* 2022;132(7):e154944. doi: 10.1172/JCI154944. Douglas, A.E. *Fundamentals of Microbiome Science: How Microbes Shape Animal Biology.* Princeton; Oxford: Princeton University press; (2018).