

TESIS DOCTORAL



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN PACIENTES CON SÍNDROME DEL INTESTINO IRRITABLE.

Autor:

José M^a Álamo Marzo

Directores:

Dr. D. Vicente Navarro López

Dr. D. Pedro Sánchez Pellicer

Murcia, junio de 2025

TESIS DOCTORAL



ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN PACIENTES CON SÍNDROME DEL INTESTINO IRRITABLE.

Autor/a:

José M^a Álamo Marzo

Directores:

Dr. D. Vicente Navarro López

Dr. D. Pedro Sánchez Pellicer

Murcia, junio de 2025



AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

El Dr. D. Vicente Navarro López y el Dr. D. Pedro Sánchez Pellicer como Directores de la Tesis Doctoral titulada *“ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN PACIENTES CON SÍNDROME DEL INTESTINO IRRITABLE.”* realizada por D. José M^a Álamo Marzo en el Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud, **autorizan su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmo, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011 de 28 de enero, en Murcia a 17 de Junio de 2025.



RESUMEN

Antecedentes/Objetivos: Cada vez es mayor la evidencia que destaca el papel fundamental de la disbiosis intestinal en la fisiopatología del síndrome del intestino irritable (SII). A pesar de ello, la identificación de una “firma de la microbiota del SII” sigue siendo difícil de alcanzar, principalmente debido a la influencia de factores genéticos, dietéticos y ambientales. Para abordar estas variables de confusión, es fundamental realizar análisis comparativos utilizando un grupo control perteneciente a la misma comunidad que los propios pacientes con SII. Este estudio tiene como objetivo evaluar y contrastar la composición de la microbiota intestinal de los pacientes con SII frente a controles sanos.

Métodos: Comparamos la microbiota intestinal de muestras de heces de 25 pacientes con SII diagnosticados según los criterios de Roma IV y 110 sujetos sanos sin enfermedades agudas o crónicas y sin medicación continua. Se realizó una secuenciación masiva de alta resolución de las regiones V3-V4 del gen *16S rRNA* para el análisis de la microbiota.

Resultados: La microbiota intestinal del SII presentó una mayor riqueza, pero mostró una menor diversidad alfa en comparación con el grupo control, lo que sugiere la existencia de simplificación y desequilibrio. El análisis de diversidad beta reveló diferencias generales en la composición entre los dos grupos. Un análisis de árbol de calor destacó los principales factores asociados al SII, incluida una disminución de Bacillota, principalmente debido a Clostridia, y un aumento de Bacteroidota, impulsado por una expansión de las familias Bacteroidales. Los análisis de expresión diferencial identificaron géneros importantes dentro de estos taxones, como *Bacteroides*, *Faecalibacterium* o *Blautia*, que podrían servir como biomarcadores de la microbiota del SII.

Conclusiones: Nuestros resultados revelan diferencias estadística y clínicamente significativas en la composición y diversidad de la microbiota intestinal entre los pacientes con SII y controles sanos de la misma comunidad. Estos hallazgos proporcionan una comprensión más profunda de cómo las alteraciones en la microbiota intestinal pueden contribuir a los síntomas del SII, ofreciendo nuevos conocimientos sobre el diagnóstico y los posibles tratamientos.

ABSTRACT

Background/Objectives: Growing evidence highlights the pivotal role of gut dysbiosis in the pathophysiology of Irritable Bowel Syndrome (IBS). Despite this, the identification of an “IBS microbiota signature” remains elusive, primarily due to the influence of genetic, dietary, and environmental factors. To address these confounding variables, it is critical to perform comparative analyses using a control group derived from the same community as the IBS patients. This study aims to evaluate and contrast the gut microbiota composition of IBS patients with healthy controls.

Methods: We compared the gut microbiota from stool samples of 25 IBS patients diagnosed according to the Rome IV criteria, and 110 healthy subjects without acute or chronic diseases and not on continuous medication. High-throughput sequencing of the V3-V4 regions of the *16S rRNA* gene was conducted for microbiota analysis.

Results: IBS gut microbiota was richer but exhibited lower alpha diversity compared to the control group, suggesting simplification and imbalance. Beta diversity analysis revealed overall compositional differences between the two groups. A heat tree analysis highlighted key IBS-associated, including a decrease in Bacillota, mainly due to Clostridia, and an increase in Bacteroidota, driven by an expansion of Bacteroidales families. Differential expression analyses identified important genera within these taxa like *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, or *Blautia*, which could serve as microbiota-based biomarkers for IBS.

Conclusions: Our results reveal both statistically and clinically significant differences in gut microbiota composition and diversity between IBS patients and healthy controls from the same community. These findings provide a deeper understanding of how alterations in gut microbiota may contribute to IBS symptoms, offering new insights into the diagnosis and potential treatments.

PALABRAS CLAVE

Síndrome del intestino irritable, trastornos funcionales digestivos, microbioma intestinal, microbiota, secuenciación de alto rendimiento, *16S rARN*

KEYWORDS

Irritable Bowel Syndrome, Functional Gastrointestinal Disorders, Gut Microbiome, Microbiota, High-Throughput Nucleotide Sequencing, *16S rARN*

AGRADECIMIENTOS

Cuando uno va cumpliendo años y se acerca peligrosamente a los cincuenta y todos, valora muchísimo la suerte de disfrutar del respaldo necesario para seguir afrontando nuevos retos profesionales y académicos. La oportunidad de finalizar mi carrera académica con la presente Tesis Doctoral tiene un nombre con mayúsculas, CARMEN, mi mujer, que ha estado apoyándome siempre, a mi lado, durante ya casi treinta años. Sería injusto no compartir agradecimientos con mis padres, a los que tengo la fortuna de disfrutar aún. Me transmitieron sus valores y concibieron un ambiente maravilloso en el que nunca me faltó nada y que me permitió elegir estudios y formación sin nada a cambio. Finalmente agradecer a mis hijos su paciencia conmigo, por el tiempo que les robé y sigo robando por culpa de todos mis líos, con la esperanza de poder servirles de ejemplo en algún momento de la vida.

Esta tesis es consecuencia directa del ofrecimiento y apoyo que mis dos directores de tesis me han brindado desde el principio. Espero haber estado a la altura. Gracias Vicente por facilitarlo todo y gracias Pedro por la paciencia y la cercanía demostrada. Es para mí un orgullo y un honor que aquel residente que vino a rotar para aprender citogenética hace tantos años, luego fuera un excelente compañero de trabajo y finalmente acabara dirigiendo mi Tesis de manera tan acertada.

"Yo he visto cosas que vosotros no creeríais. Atacar naves en llamas más allá de Orión. He visto rayos-c brillar en la oscuridad cerca de la puerta de Tanhäuser. Todos esos momentos se perderán en el tiempo, como lágrimas en la lluvia. Es hora de morir." Roy Batty (interpretado por Rutger Hauer (1944-2019) en la película *Blade Runner*, Ridley Scott, 1982).

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	7
I - INTRODUCCIÓN. MARCO TEÓRICO	31
1.1. Los trastornos funcionales digestivos	31
1.1.1. Clasificación de los trastornos funcionales digestivos.....	32
1.2. El síndrome del intestino irritable	36
1.2.1. Definición. Evolución histórica	36
1.2.2. Criterios de Roma IV	39
1.2.3. Subtipos del síndrome del intestino irritable	39
1.2.4. Epidemiología. Prevalencia. Incidencia	41
1.2.5. Impacto del síndrome del intestino irritable	43
1.2.6. Factores de riesgo en el desarrollo del síndrome del intestino irritable..	45
1.2.6.1. Factores personales	45
1.2.6.2. Factores psicológicos	45
1.2.6.3. Problemas somáticos.....	45
1.2.6.4. Condiciones sociales	46
1.2.7. Etiopatogenia del síndrome del intestino irritable	47
1.2.7.2. Evidencia del papel de la microbiota en la etiopatología del síndrome del intestino irritable.....	55
1.2.8. Composición normal de la microbiota intestinal.....	57
1.2.8.1. Enterotipos humanos de la microbiota intestinal	58
1.2.8.2. Las tres líneas de defensa de un intestino “sano”	61
1.2.8.3. Características y funciones de la microbiota intestinal.....	63
1.2.9. Composición y descripción de la microbiota en pacientes con síndrome del intestino irritable.....	64

1.2.10.	Tratamiento del síndrome del intestino irritable.....	70
1.2.10.1.	Dieta	70
1.2.10.2.	Probióticos, prebióticos, simbióticos y postbióticos	70
1.2.10.3.	Antibióticos	72
1.2.10.4.	Trasplante de microbiota fecal	72
II -	JUSTIFICACIÓN	77
III -	OBJETIVOS.....	83
IV -	MATERIAL Y MÉTODOS	87
4.1.	Diseño del estudio y población.....	87
4.1.1.	Ensayo clínico con pacientes de síndrome del intestino irritable.....	87
4.1.1.1.	Criterios de inclusión en el ensayo con pacientes de síndrome del intestino irritable:	87
4.1.1.2.	Criterios de exclusión en el ensayo con pacientes de síndrome del intestino irritable:	87
4.1.2.	Ensayo clínico con controles sanos	88
4.1.2.1.	Criterios de inclusión en el ensayo con controles sanos:	88
4.1.2.2.	Criterios de exclusión en el ensayo con controles sanos:.....	88
4.2.	Recogida de las muestras de heces.....	89
4.3.	Perfil de la microbiota intestinal.....	89
4.4.	Procesamiento de los datos de la secuencia del 16S rARN.....	91
4.5.	Presentación de resultados y análisis estadístico.....	93
4.5.1.	Análisis de diversidad alfa.....	93
4.5.2.	Análisis de diversidad beta.....	93
4.5.3.	Descripción de la microbiota intestinal de pacientes con síndrome del intestino irritable y controles sanos y métodos exploratorios visuales	93
4.5.4.	Análisis de taxones microbianos expresados diferencialmente	94

4.5.5.	Análisis de redes de correlación.....	94
V -	RESULTADOS.....	98
5.1	Datos clínicos y demográficos de los participantes	98
5.2	Alfa diversidad de la microbiota intestinal en pacientes con SII	99
5.3	Diferencias en la agrupación de comunidades microbianas entre pacientes con SII y controles sanos.....	100
5.4	Diferencias de composición a nivel de filo, familia y género entre pacientes con SII y controles sanos evidenciados mediante métodos exploratorios visuales.....	102
5.5	Géneros con expresión diferencial identificados en pacientes con SII como biomarcadores potenciales	109
5.6	El análisis de la red de correlación identificó interacciones características entre familias en pacientes con SII.....	111
VI -	DISCUSIÓN.....	115
6.1.	Alfa diversidad y riqueza	115
6.2.	Beta diversidad	116
6.3.	Grupos bacterianos que diferencialmente caracterizan la microbiota intestinal de los pacientes con SII.....	117
VII -	CONCLUSIONES	133
VIII -	LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.....	137
IX -	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	141
X -	ANEXOS	157

SIGLAS Y ABREVIATURAS

- ACG**, *american college of gastroenterology*
- ADN**, ácido desoxirribonucleico
- AGA**, *american gastroenterology association*
- AGCC**, ácidos grasos de cadena corta
- ARN**, ácido ribonucleico
- CEE**, célula endocrina entérica
- DE**, desviación standard
- DF**, diarrea funcional
- DGBI**, *disorders of gut-brain interaction*
- EF**, estreñimiento funcional
- EII**, enfermedad inflamatoria intestinal
- FDA**, *food and drug administration*
- FODMAP**, *fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides and polyols*
- GABA**, ácido gamma aminobutírico
- GLP**, *glucagon-like peptides 1*
- GOS**, galactooligosacáridos
- HDAF**, hinchazón/distensión abdominal funcional
- HPA**, *hypothalamic-pituitary-adrenal axis*
- IBS**, *irritable bowel syndrome*
- IBS-SSS**, *intestinal bowel syndrome severity scoring system*
- IEC**, *intestinal epithelial cell*
- IMC**, índice de masa corporal
- LDA**, *linear discriminant analysis*
- LEfSe**, *linear discriminant analysis size effect*
- MCC**, *Maximal Clique Covers*
- NGS**, *next generation sequencing*
- NICE**, *National Institute for Health and Care Excellence*
- OTU**, *operational taxonomic units*

PAMPs, *pathogen associated molecular patterns*

PB, pares de bases

PCoA, *principal coordinate analysis chart*

PCR, *polymerase chain reaction*

PYY, *peptide YY*

PERMANOVA, *permutational multivariate analysis of variance*

QOL, *quality of life*

SIBO, *small intestinal bacterial overgrowth*

SII, síndrome del intestino irritable

SII-D, síndrome del intestino irritable subtipo diarrea

SII-E, síndrome del intestino irritable subtipo estreñimiento

SII-I, síndrome del intestino irritable subtipo inclasificable

SII-M, síndrome del intestino irritable subtipo mixto

SII-PI, síndrome del intestino irritable subtipo post infección

SparCC, *sparse correlation algorithm for compositional data*

TFD, trastornos funcionales digestivos

TICI, trastornos de la interacción cerebro intestino

TLR, *toll-like receptor*

TME, trasplante de materia fecal

TMM, *trimmed mean of M-values*

TPH, triptófano hidrolasa

UCAM, Universidad Católica San Antonio de Murcia

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la prevalencia mundial de los TFD (Sperber, 2021).....	32
Figura 2. Clasificación Roma IV de los TFD (Black, 2020).....	33
Figura 3. Marco conceptual para explicar los TFD intestinales (Adaptado de Mearin, 2016).....	34
Figura 4. Modelo conceptual biopsicosocial de los trastornos funcionales gastrointestinales (Drossman, 2016).	35
Figura 5. Algoritmo diagnóstico para pacientes con sospecha de SII (Adaptado de Ford, 2020).....	36
Figura 6. Escala Bristol de las heces (Otero, 2022).....	38
Figura 7. Subtipos de SII a partir de la escala de heces de Bristol (Menees, 2018). 40	
Figura 8. Prevalencia del SII aplicando los criterios de Roma III (Enck, 2016).....	41
Figura 9. Prevalencia del SII aplicando los criterios de Roma IV (Sperber, 2021). 42	
Figura 10. Datos de prevalencia en España del SII y de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (Mearin, 2019).	42
Figura 11. Carga de trabajo de pacientes con SII: resultados de una encuesta a gastroenterólogos españoles (Almansa, 2011).	43
Figura 12. Factores que afectan la severidad de los síntomas del SII (Ford, 2020).46	
Figura 13. Hipótesis microbiana en el SII (Pimentel, 2020).....	47
Figura 14. Consecuencias de la disbiosis (Pimentel, 2020).....	49
Figura 15 Vías de comunicación del eje microbiota-intestino-cerebro (Simon, 2021).	50
Figura 16. Influencia de los metabolitos bacterianos en el eje intestino-cerebro (Kostiuchenko, 2024).....	51
Figura 17. Papel de la microbiota intestinal en el SII (Adaptado de Zhao, 2024). .	54
Figura 18. Esquema de preparación del trasplante de microbiota fecal (Mazzawi, 2022).	56

Figura 19. Abundancia de las especies en el intestino humano a nivel de filo y de género (Álvarez, 2021).....	58
Figura 20. Marcadores potenciales de un microbioma saludable (Van Hul, 2024).	59
Figura 21. Enterotipos humanos (Adaptado de Arumugaman, 2011).	60
Figura 22. Las tres líneas de defensa del equilibrio saludable intestinal (Adaptado de Van Hul, 2024).	62
Figura 23. Principales alteraciones de la microbiota en el SII (Cheng, 2024).	66
Figura 24. Diferencias en la composición de la microbiota entre controles sanos y pacientes con SII (Pittayanon, 2019).	68
Figura 25. Cambios en la microbiota de los diferentes subtipos de SII (Surdea-Blaga, 2024).	69
Figura 26. Diagrama que muestra los posibles efectos beneficiosos de los probióticos en el intestino (Mazzawi, 2022).	71
Figura 27. Esquema de trabajo y procesamiento de datos y resultados.....	90
Figura 28. Recuento de lecturas por muestra.	92
Figura 29. Diagramas de cajas de la distribución de los índices de alfa diversidad y riqueza.	99
Figura 30. Curvas de rarefacción. Grupo control vs grupo SII.	99
Figura 31. PCoA basado en la distancia de Bray-Curtis.	101
Figura 32. Dendrograma.	102
Figura 33. Diagrama de barras de abundancias relativas a nivel de filo.....	103
Figura 34. Diagrama de barras de abundancias relativas a nivel de familia.	104
Figura 35. Diagrama de barras de abundancias relativas a nivel de género.	105
Figura 36. Árbol de calor a nivel de familia.	106
Figura 37. Análisis del microbioma central para el grupo de pacientes con SII. .	107
Figura 38. Análisis del microbioma central para el grupo de controles.....	108
Figura 39. Géneros identificados como biomarcadores por LEfSe.	109
Figura 40. Géneros identificados como biomarcadores por Random Forest.....	110

Figura 41. Análisis de redes de correlación a nivel familiar determinado por el algoritmo SparCC.....	112
---	-----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Características basales de todos los participantes.	98
Tabla 2 Categorización clínica de los pacientes con SII.	98
Tabla 3 Comparaciones de varias métricas de distancia de diversidad beta utilizando la prueba PERMANOVA.	102

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Dictamen Comité de Ética Hospital del Vinalopó 29/06/2022.....	157
ANEXO 2. Dictamen Comité de Ética UCAM 28/04/2023.....	159
ANEXO 3. Dictamen Comité de Ética UCAM 29/04/2022.....	161

I – INTRODUCCIÓN

I - INTRODUCCIÓN. MARCO TEÓRICO

En el marco teórico de la presente tesis doctoral analizaremos a partir de una revisión exhaustiva de la bibliografía, las últimas aportaciones a la fisiopatología del Síndrome del Intestino Irritable (SII), uno de los principales trastornos funcionales digestivos (TFD), sobre todo en cuanto al papel que la microbiota intestinal protagoniza en dicha patología.

1.1. LOS TRASTORNOS FUNCIONALES DIGESTIVOS

Los trastornos funcionales digestivos (TFD), también denominados alteraciones del eje intestino-cerebro o trastornos de la interacción cerebro-intestino (TICI) o DGBI (*disorders of gut-brain interaction*), constituyen un grupo heterogéneo de síndromes de afectación gastrointestinal que pueden surgir en cualquier segmento del aparato digestivo, sin causa orgánica o anatómica aparente que los desencadene (1). Cursan de manera crónica y se definen por criterios basados principalmente en síntomas. Estos están relacionados con multitud de factores, como el tipo de dieta, la composición de la microbiota intestinal, las alteraciones de la motilidad intestinal, los trastornos de la sensibilidad visceral, el desequilibrio inmunitario y algunas alteraciones del procesamiento intestinal por parte del sistema nervioso central (2).

Los TFD pueden aparecer a cualquier edad, pero son más severos en menores de 50 años, y además afectan más a las mujeres. En niños del área mediterránea la prevalencia (3) alcanza hasta el 32%. Pueden afectar hasta el 40% de las personas en algún momento de su vida (1). En la figura 1 se observa las diferencias en prevalencia a nivel mundial (4), observando países con prevalencias superiores al 40% de su población.

En hasta 2/3 de los pacientes estos síntomas, dolor abdominal, hinchazón, diarrea, estreñimiento, dispepsia, etc, se manifestarán de manera crónica, recurrente o fluctuante y en muchas ocasiones se asociarán a la ingesta de algún alimento por lo que se favorecerá la prescripción de dietas de eliminación (5).

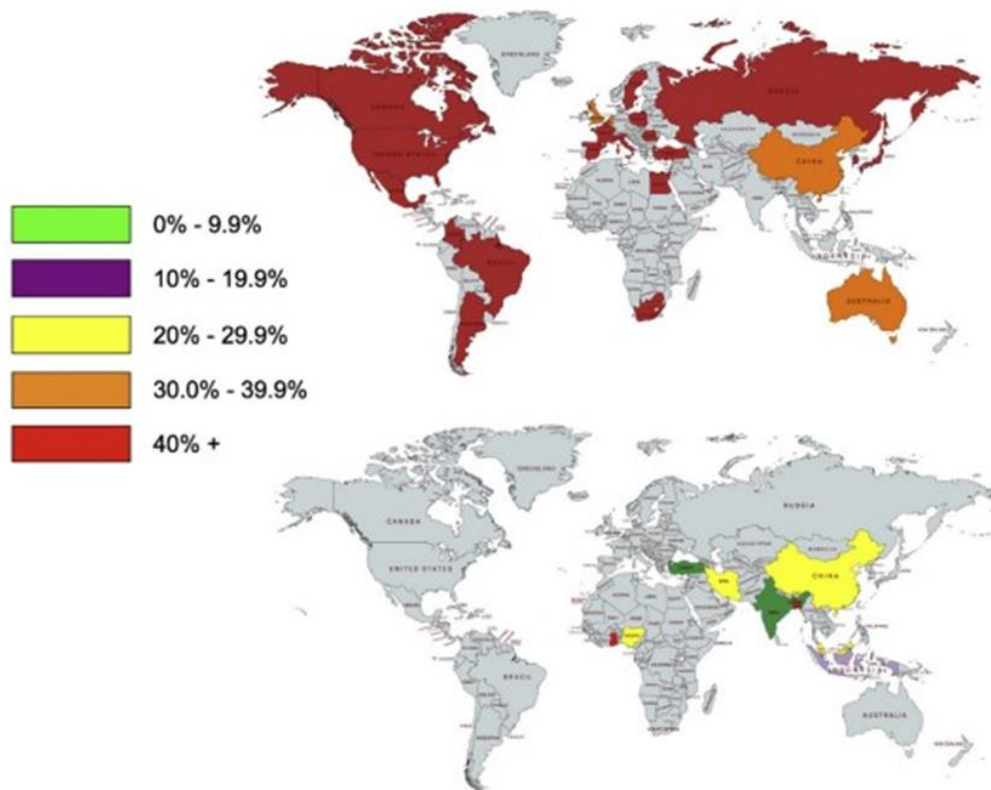


Figura 1. Mapa de la prevalencia mundial de los TFD (Sperber, 2021).

1.1.1. Clasificación de los trastornos funcionales digestivos

En los últimos años y a partir de los esfuerzos de un grupo internacional de gastroenterólogos (Fundación Roma), se ha ido actualizando la clasificación de los TFD hasta la actual, siguiendo los consensuados criterios de Roma IV establecidos en 2016 (6).

Los TFD se clasifican en 6 categorías distintas (7), denominadas como trastornos esofágicos, trastornos gastroduodenales, trastornos intestinales, trastornos de dolor gastrointestinal mediado centralmente, trastornos de la vesícula biliar, trastornos del esfínter de Oddi y trastornos anorrectales tal y como se detalla en la figura 2 (2).

Panel 1: Rome IV adult functional gastrointestinal disorders (disorders of the gut-brain interaction)¹⁴

A: Oesophageal disorders
A1: Functional chest pain
A2: Functional heartburn
A3: Reflux hypersensitivity
A4: Globus
A5: Functional dysphagia
B: Gastroduodenal disorders
B1: Functional dyspepsia
B1a: Postprandial distress syndrome
B1b: Epigastric pain syndrome
B2: Belching disorders
B2a: Excessive supragastric belching
B2b: Excessive gastric belching
B3: Nausea and vomiting disorders
B3a: Chronic nausea vomiting syndrome
B3b: Cyclic vomiting syndrome
B3c: Cannabinoid hyperemesis syndrome
B4: Rumination syndrome
C: Bowel disorders
C1: IBS
C1a: IBS with predominant constipation
C1b: IBS with predominant diarrhoea
C1c: IBS with mixed bowel habits
C1d: IBS unclassified
C2: Functional constipation
C3: Functional diarrhoea
C4: Functional abdominal bloating or distension
C5: Unspecified functional bowel disorder
C6: Opioid-induced constipation
D: Centrally mediated disorders of gastrointestinal pain
D1: Centrally mediated abdominal pain syndrome
D2: Narcotic bowel syndrome or opioid-induced gastrointestinal hyperalgesia
E: Gallbladder and sphincter of Oddi disorders
E1: Biliary pain
E1a: Functional gallbladder disorder
E1b: Functional biliary sphincter of Oddi disorder
E2: Functional pancreatic sphincter of Oddi disorder
F: Anorectal disorders
F1: Faecal incontinence
F2: Functional anorectal pain
F2a: Levator ani syndrome
F2b: Unspecified functional anorectal pain
F2c: Proctalgia fugax
F3: Functional defaecation disorders
F3a: Inadequate defaecation propulsion
F3b: Dysynergic defaecation

IBS=irritable bowel syndrome.

Figura 2. Clasificación Roma IV de los TFD (Black, 2020).

Dentro de la clasificación destacamos por su relevancia los TFD intestinales (*functional bowel disorders*) que a su vez se subclasifican también en otras seis categorías (8) principales en adultos: Síndrome del intestino irritable (SII), Estreñimiento funcional (EF), Diarrea funcional (DF), Hinchazón/Distensión abdominal funcional (HDAF), Trastornos intestinales funcionales no especificados y Estreñimiento inducido por opioides. Aunque a menudo se piensa que existen como trastornos completamente separados, existe una superposición significativa entre estos trastornos. Deben considerarse como un continuo, más que de forma aislada (5).

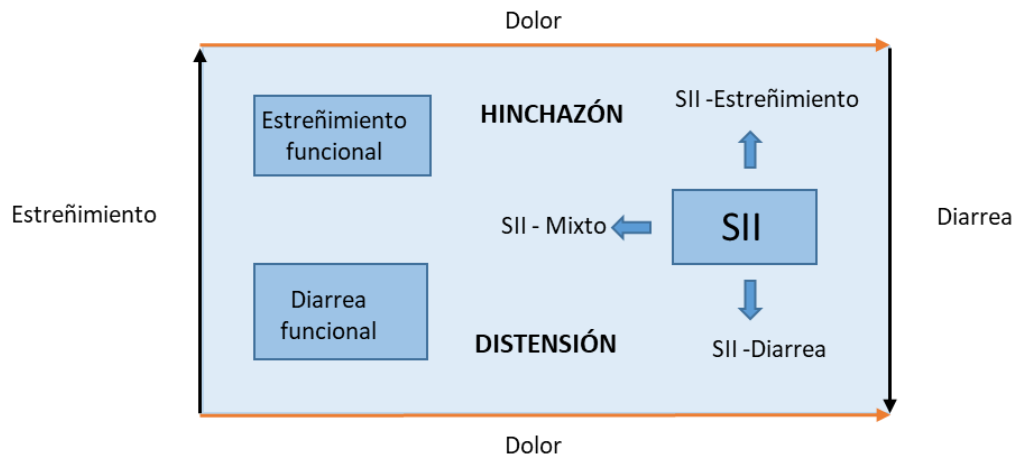


Figura 3. Marco conceptual para explicar los TFD intestinales (Adaptado de Mearin, 2016).

En la figura 3 se ilustra que un paciente con SII (derecha) tendrá síntomas de dolor abdominal, a diferencia de un paciente con EF o DF, que no tiene dolor abdominal. La hinchazón y la distensión son síntomas comunes reportados con frecuencia por pacientes con cualquier TFD intestinal (5).

Por todo ello, los TFD intestinales no se consideran trastornos aislados y muchas veces sus espectros fenotípicos se solapan, se habla de un continuo. Actualmente los TFD intestinales olvidan su carácter “funcional” y se les denomina alteraciones de la interacción intestino-cerebro (9,10).

Esta nueva acepción permite introducir otros factores psicológicos (estrés, ansiedad, depresión) y da un papel principal a la composición de la microbiota y de la dieta de los pacientes, como se muestra en la figura 4. Es un recorrido en la historia de la medicina desde el holismo de la antigua Grecia (cuerpo y mente integrado) hasta el modelo del sistema biopsicosocial de Engel (11) y la aparición de la neurogastroenterología (12) en nuestra era.

Se enfatiza que este nuevo eje se denomine intestino-cerebro y no viceversa por el mayor peso del intestino en la fisiopatología de los TFD intestinales (13).

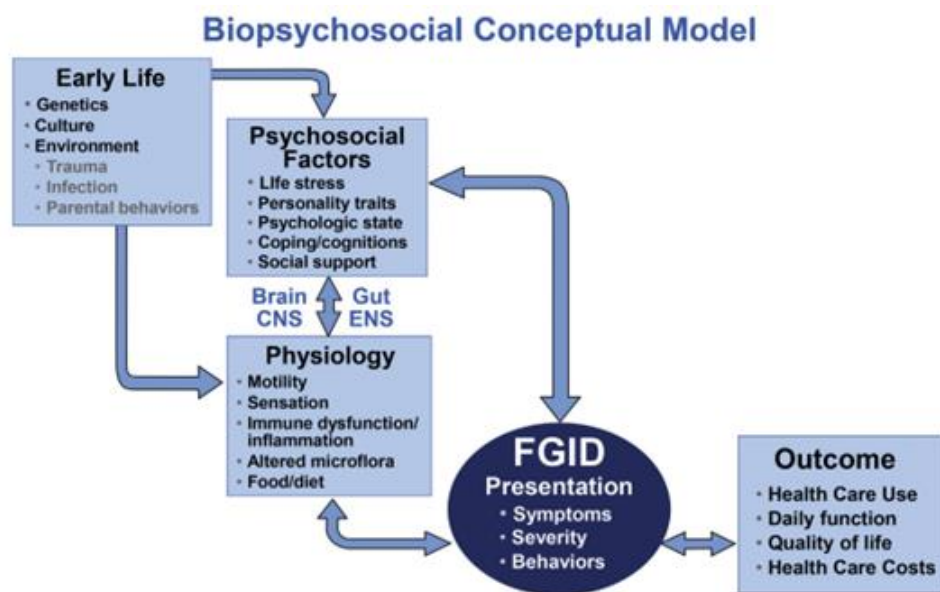


Figura 4. Modelo conceptual biopsicosocial de los trastornos funcionales gastrointestinales (Drossman, 2016).

La fisiopatología de los trastornos gastrointestinales funcionales es compleja, pero implica una desregulación bidireccional de la interacción intestino-cerebro. La comorbilidad psicológica es común; sin embargo, no está claro si esto es anterior a los síntomas o si es impulsado por ellos. Los pacientes con trastornos gastrointestinales funcionales pueden sentirse estigmatizados y, a menudo, los médicos no les comunican este diagnóstico de manera eficaz ni se les proporciona educación al respecto. La identificación y el tratamiento precoz de estas afecciones son primordiales, por el impacto en los sistemas de salud y en la sociedad en general, debido sobre todo por la cantidad de consultas reiteradas, las cirugías innecesarias, el gasto en medicamentos y sobre todo por el deterioro de la calidad de vida relacionada con la salud y la capacidad para trabajar, incluso algunos pacientes tienden al aislamiento social. Al tratarse de un diagnóstico basado sobre todo en síntomas y no en criterios objetivables o medibles, los tratamientos de los TFD se basan en una comprensión biopsicosocial e implican el manejo de los síntomas físicos y psicológicos si están estos últimos presentes. De hecho el tratamiento psicológico coadyuvante de los pacientes con SII está claramente demostrado (14).

1.2. EL SÍNDROME DEL INTESTINO IRRITABLE

1.2.1. Definición. Evolución histórica

El síndrome de intestino irritable (SII o IBS, siglas de *irritable bowel syndrome*) es un trastorno funcional digestivo intestinal crónico de alta prevalencia y que afecta negativamente a la calidad de vida de los pacientes (*Quality of life, QoL*) (8).

Cursa con dolor o malestar abdominal, normalmente con un patrón alterado del ritmo de defecación y de la tipología de las heces, no coexistiendo además otras causas subyacentes de patología, como alteraciones anatómicas estructurales o cambios bioquímicos. Como se muestra en la figura 5, el algoritmo diagnóstico debe descartar los procesos orgánicos y/o anatómicos que puedan ser responsables de algún tipo de patología gastrointestinal (15).

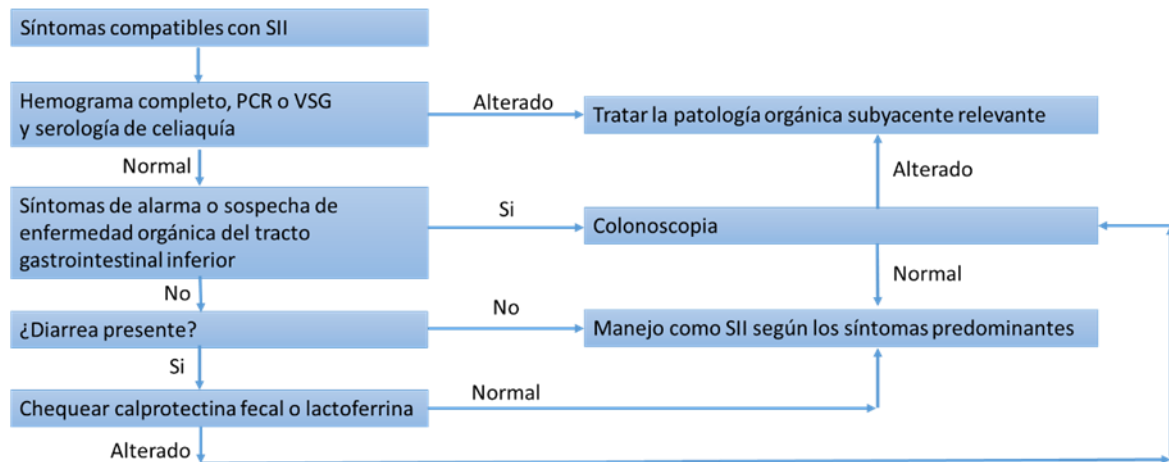


Figura 5. Algoritmo diagnóstico para pacientes con sospecha de SII (Adaptado de Ford, 2020).

Así pues, en pacientes con síntomas de alarma como la detección de masas o la presencia de melenas, se debe realizar una colonoscopia para descartar cáncer de colon. En mayores de 60 años los cambios repentinos de los hábitos intestinales deben ser también investigados. En mayores de 50 años debe aclararse el origen de cualquier sangrado repentino, mientras que, en mayores de 40 años, conviene aclarar las pérdidas de peso repentinas y el dolor abdominal.

La posible existencia de Enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa debe chequearse mediante la determinación de lactoferrina y/o calprotectina en heces.

La enfermedad celíaca también puede ser descartada mediante los anticuerpos antitransglutaminasa y antipéptido deaminado de la gliadina (IgA e IgG).

Ante una posible enfermedad inflamatoria, otras pruebas básicas de laboratorio, como un hemograma, una velocidad de sedimentación globular y un reactante de fase aguda como la Proteína C Reactiva deben practicarse.

Una vez descartado todo lo anterior, el manejo clínico del SII debe abordarse en función de los síntomas predominantes (15).

Pese a no existir una causa etiológica común parece haber un trasfondo común al SII que podría incluir cambios inmunológicos, genéticos y ambientales originados principalmente por los componentes de la dieta.

La composición de la microbiota intestinal (9) parece tener un papel preponderante en la fisiopatología de este síndrome que afecta de manera tan frecuente al denominado eje intestino-cerebro.

En 1978 a partir de las respuestas de un cuestionario con 15 preguntas sobre los principales síntomas del SII, Manning y colaboradores establecieron los primeros criterios diagnósticos (16).

Kruis y colaboradores en 1984 introdujeron un sistema de puntuación basado en una encuesta y en 8 investigaciones básicas sobre el paciente que permitían diagnosticar la enfermedad orgánica o el SII con una notable sensibilidad y especificidad (17).

En 1990 Drossman al frente de un grupo internacional de expertos gastroenterólogos definen los trastornos funcionales digestivos, en 6 grupos principales, uno de ellos denominado Desórdenes Funcionales Intestinales y que incluiría al SII, citando los denominado Criterios de Roma I; por primera vez se habla de dolor intestinal crónico y de la consistencia y frecuencia de las deposiciones, de flatulencia, descartando por supuesto desórdenes orgánicos e introduciendo un componente psicológico como el estrés como causa de SII (18).

En 1999 Thompson (19) lidera el Comité en Desórdenes funcionales intestinales y dolor abdominal funcional en un equipo de trabajo multinacional para desarrollar criterios para los trastornos funcionales gastrointestinales (Roma

II). Se requieren al menos tres meses de dolor abdominal (no hace falta que consecutivos) en los últimos 12 meses en los que se cumplan 2 de estas 3 características: dolor aliviado al defecar, inicio asociado a un cambio en la frecuencia o en la apariencia de las heces.

En 2006 Longstreth (20) revisa los criterios de todos los TFD y en el caso del SII ajusta la aparición de dolor o molestia abdominal (sensación incómoda) que ocurre al menos 3 días al mes en los últimos 3 meses, manteniendo las premisas de cambio en la frecuencia y el aspecto de las heces con el comienzo de los síntomas.

Finalmente es en el año 2016 cuando el panel internacional de expertos gastroenterólogos liderados por Lacy y Mearin (5) desarrollan los actualmente en vigor Criterios de Roma IV. A partir de ellos se reclasifican los TFD intestinales, pasando de 6 a 5 categorías.



Figura 6. Escala Bristol de las heces (Otero, 2022).

El SII se diagnostica con dolor abdominal recurrente asociado a cambios en los hábitos intestinales, en términos de frecuencia en el número de deposiciones y consistencia de las heces, medidas con la escala de las heces de Bristol (21), tal y como se ve en la figura 6. Muy a menudo vemos asociado un síntoma acompañante como es la hinchazón o distensión abdominal (pero ahora, con los criterios de Roma

IV, ya no es necesario tener este síntoma) y estos cambios en los hábitos intestinales se asocian a cronicidad porque deben haber ocurrido en al menos los 6 meses previos al diagnóstico y estar presente en los últimos 3 meses (en episodios que ocurren una vez por semana como mínimo).

1.2.2. Criterios de Roma IV

Los criterios de Roma IV han quedado definidos como:

Presencia de dolor abdominal recurrente (un promedio de al menos 1 día por semana en los últimos 3 meses), asociado con 2 o más de los siguientes criterios:

1. Relacionado con la defecación
2. Asociado con un cambio en la frecuencia de las deposiciones
3. Asociado con un cambio en la forma (apariencia) de las heces

Los criterios deben haberse cumplido durante los últimos 3 meses y los síntomas deberían haber comenzado al menos 6 meses antes del diagnóstico (1).

1.2.3. Subtipos del síndrome del intestino irritable

Aplicando los criterios de Roma IV el SII se clasifica en 4 subtipos: SII con diarrea (SII-D), SII con estreñimiento (SII-E), SII mixto con diarrea y estreñimiento (SII-M) y SII inclasificable (SII-I) (22).

SII con estreñimiento predominante (SII-E): más del 25% de las deposiciones con heces de Bristol tipos 1 o 2 y menos de otro 25% de los tipos 6 o 7. Los movimientos intestinales anormales son generalmente de tipo estreñimiento.

SII con diarrea predominante (SII-D): más del 25% de las deposiciones con heces de Bristol tipos 6 o 7 y menos de otro 25% de los tipos 1 o 2. Los movimientos intestinales anormales son generalmente de tipo diarrea.

SII con hábitos intestinales mixtos (SII-M): más del 25% de las deposiciones con heces de Bristol tipos 1 o 2 y más de otro 25% de las deposiciones con heces de Bristol forman los tipos 6 o 7. Los movimientos intestinales anormales son más de una cuarta parte de tipo diarrea y más de otra cuarta parte estreñimiento.

SII inclasificable (SII-I): Pacientes que cumplen con los criterios diagnósticos para el SII, pero cuyos hábitos intestinales no pueden ser categorizados con precisión en 1 de los 3 grupos anteriores.

Un nuevo subtipo fue añadido en el año 2019 cuando se definió específicamente el SII-post infección (SII-PI) (23).

Así pues, el consenso internacional ha permitido establecer un diagnóstico positivo basado en los síntomas y dejar atrás el antiguo sistema de diagnóstico por exclusión.

En la figura 7 observamos la correlación entre los subtipos de SII y la escala de las heces de Bristol. Los subtipos son más precisos cuando los pacientes tienen al menos 4 días de hábitos intestinales anormales por mes (24).

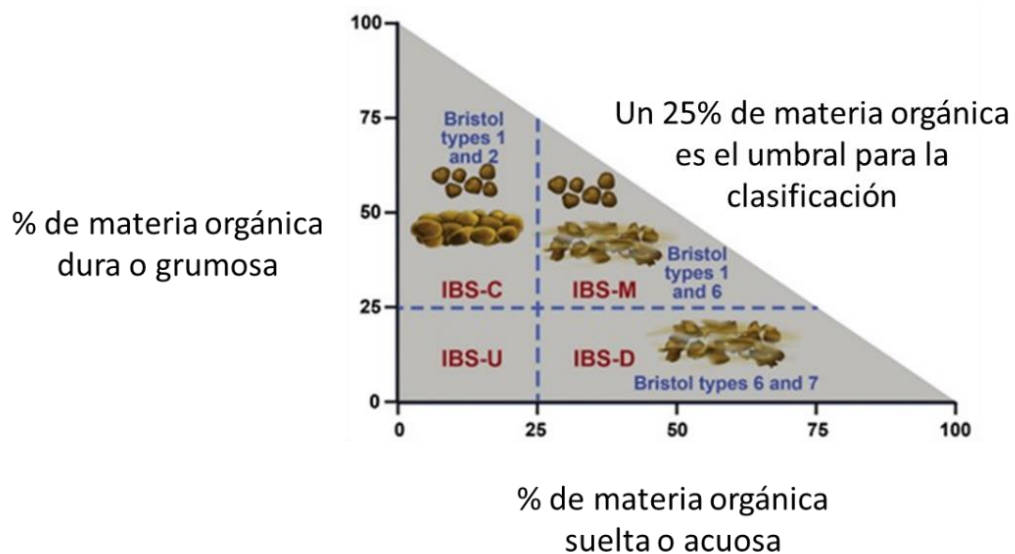


Figura 7. Subtipos de SII a partir de la escala de heces de Bristol (Menees, 2018).

1.2.4. Epidemiología. Prevalencia. Incidencia

La adopción de los criterios de Roma IV ha supuesto un descenso de la prevalencia de la enfermedad, al retirar la hinchazón como uno de los síntomas de la enfermedad.

Según se recoge en las figura 8, el SII puede afectar (25) entre el 7% y el 21% de la población según el continente/región (sudeste asiático frente a Sudamérica) o país estudiado (1.1% Francia frente a 45% en Pakistán) con pacientes que siguen los criterios de Roma III.

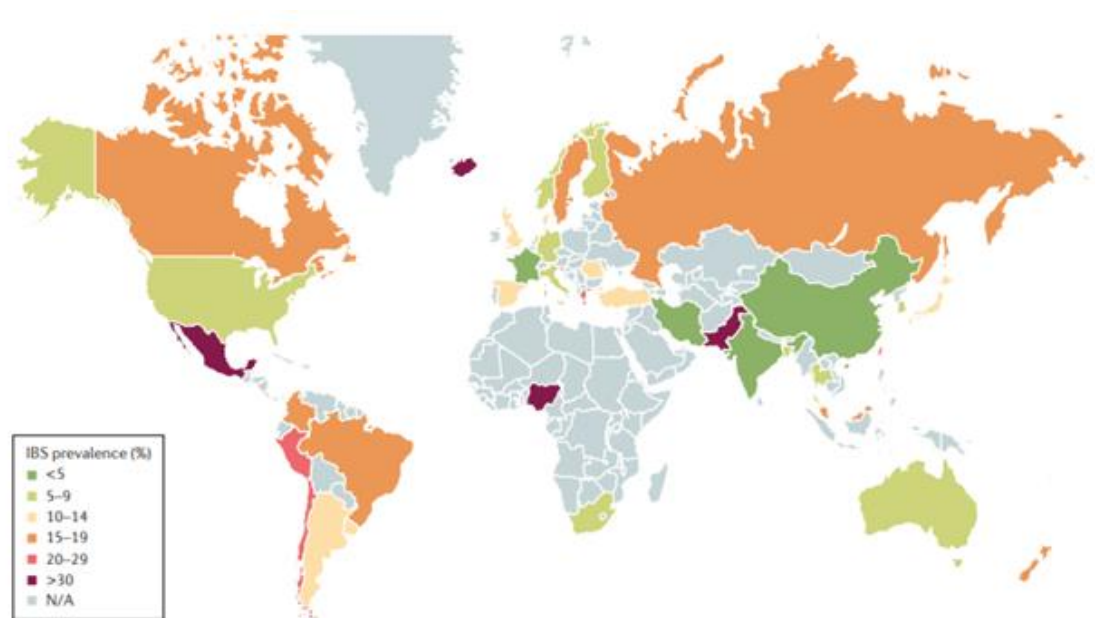


Figura 8. Prevalencia del SII aplicando los criterios de Roma III (Enck, 2016).

Existe una gran heterogeneidad (26) entre los estudios de prevalencia, fundamentalmente debido a la selección de los criterios de clasificación.

Un estudio de la Fundación Roma con más de 73000 individuos de 33 países diferentes (4) estableció una prevalencia global mundial (con los criterios de Roma IV) del 4.1% como se observa en la figura 9, mientras que en la figura 10 se muestran los datos recogidos en España por Mearin en los que la prevalencia alcanzó un 4,2% (27).

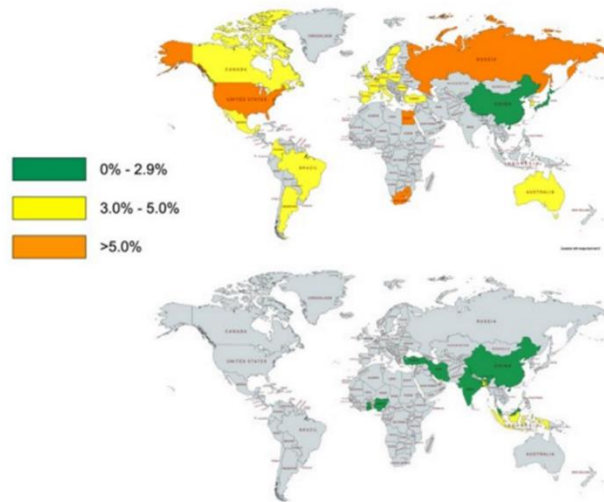


Figura 9. Prevalencia del SII aplicando los criterios de Roma IV (Sperber, 2021).

La incidencia anual del SII se estima que es del 1,35 % al 1,5 %, según 2 estudios de población longitudinales separados que duraron 10 y 12 años (28,29).

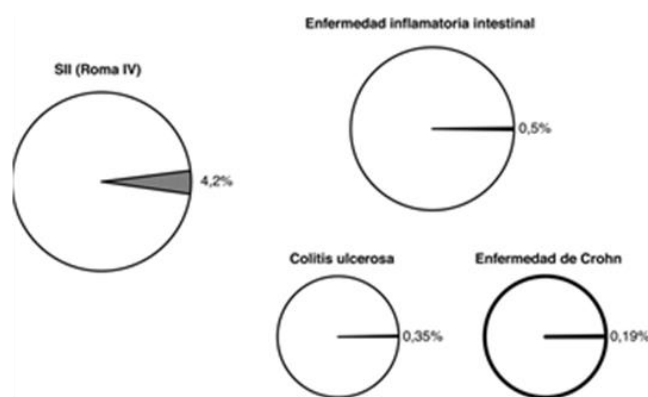


Figura 10. Datos de prevalencia en España del SII y de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (Mearin, 2019).

1.2.5. Impacto del síndrome del intestino irritable

El gran impacto de la enfermedad reside en el empeoramiento en la calidad de vida del paciente, en la disminución de la productividad laboral que produce y un cierto aislamiento o retraimiento social. Las mujeres tienen el doble de probabilidades de desarrollar SII que los hombres aunque esta cifra varía en función del país donde se ha realizado el estudio (30). Además es más probable que se desarrolle un SII en menores de 50 años que en personas mayores de 50 (4).

Un estudio español (31) que evaluó el peso del SII dentro de la consulta de Gastroenterología en una encuesta de más de 500 especialistas entrevistados, concluyó que el SII supone entre un 25 y un 50% del total de consultas para el 54% de los profesionales, mientras que para otro 29% de gastroenterólogos, suponía entre un 50 y un 75% como podemos observar en la figura 11.

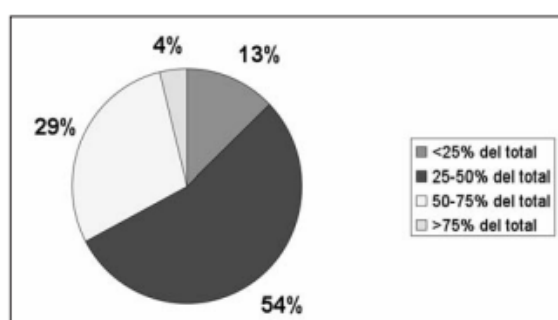


Figura 11. Carga de trabajo de pacientes con SII: resultados de una encuesta a gastroenterólogos españoles (Almansa, 2011).

El impacto del SII es notable no sólo a nivel clínico. El SII afecta negativamente a la calidad de vida (32), al bienestar psicológico (33,34) y a las relaciones sociales (35). En el subtipo SII-D los pacientes experimentan una mayor pérdida de calidad de vida (QoL), por la imprevisibilidad de la aparición de los síntomas, y el miedo a la incontinencia, además de sentirse incomprendidos por familiares amigos y los propios médicos (36). De manera paralela y de gran importancia son aquellos pacientes que tras su visita al gastroenterólogo no perciben una mejoría en su QoL (37) reflejando insatisfacción con el manejo clínico y una falta de enfoque holístico. Se estima que padecer SII puede promediar una disminución de entre 10 y 15 años en la esperanza de vida de los pacientes. El SII

supone la condición digestiva más común entre las mujeres y los menores de 50 años, como hemos comentado, y esto se ha estimado que supone unas pérdidas entre 1,5 y 10 billones de dólares al año en EEUU (38) . Aparte de los costes directos asociados al diagnóstico, manejo y tratamiento del SII, tenemos que sumar los costes indirectos que se asocian a otras enfermedades crónicas (35) como son el absentismo laboral y una baja productividad.

En nuestro país no se ha abordado un estudio formal sobre el impacto socioeconómico del SII, pero Mearin (27) estableció el coste del SII-E (moderado-grave) en unos 1635 € por paciente y año, y eso pese a que el 80% de los pacientes recibía medicación, pero la mejoría percibida fue escasa y se observó una disminución de la calidad de vida (en el índice *IBS-QoL*). El 50% del coste estimado se atribuyó a la factura de las hospitalizaciones, otro 23% al coste de las consultas médicas para el sistema de salud, mientras que los pacientes soportaban el resto del coste atribuido a la medicación. No se incluyeron los costes del absentismo laboral. En otra publicación (39) más reciente, si se recogen datos sobre el impacto del SII en España, de manera que el 60% de los pacientes con SII consulta al menos una vez en la vida con el médico, el 16% todos los meses del último año. Causa baja laboral hasta un 21% de ellos en su vida debido al SII, y un 8% lo ha estado el último año y durante más de un mes. Otro dato añadido es que el SII afecta a la capacidad de desenvolverse en el trabajo de manera correcta afectando hasta el 60% de los enfermos.

Ese deterioro progresivo está relacionado con la intensidad de los síntomas y con la presencia de trastornos psicológicos (15).

Por lo tanto, el diagnóstico preciso del SII a partir de la elaboración de una historia clínica profunda a través de una exploración del paciente y una entrevista exhaustiva y tranquila, la minimización de las investigaciones invasivas y la recomendación de un tratamiento eficaz tienen un papel importante en los esfuerzos para reducir los efectos sociales y económicos de la enfermedad (40,41).

La Agencia Europea del Medicamento recomienda evaluar el efecto del tratamiento por dolor y/o malestar abdominal junto con las anomalías en la defecación (42).

Es conocida la carga de síntomas tan diversa que concurre en el SII y que va más allá de las molestias gastrointestinales, como la fibromialgia, el síndrome de fatiga crónica (8,15), la disfunción de la articulación temporo-mandibular, la cistitis crónica, el dolor abdominal pélvico crónico, el estrés, la ansiedad y la depresión (43). La fatiga concurre hasta en el 90% de los casos y es causa principal de derivación a atención médica secundaria.

1.2.6. Factores de riesgo en el desarrollo del síndrome del intestino irritable

1.2.6.1. Factores personales

Los principales factores personales serían:

Sexo (femenino)

Edad (por debajo de 50 años)

Tiempo de lactancia (inferior a 6 meses)

Peso bajo al nacer

Índice bajo de masa corporal.

1.2.6.2. Factores psicológicos

Padecer estrés psicológico agudo o sufrir acontecimientos vitales estresantes

Historial de abuso sexual o físico

Ansiedad, depresión o somatización

Violencia de género

Sufrir comportamientos adictivos

1.2.6.3. Problemas somáticos

Padecer dolores en las articulaciones y/o migraña

Endometriosis

Obesidad abdominal

Diverticulitis sobre todo en el lado izquierdo

Uso indiscriminado de antibióticos

Cirugía abdominal

Consumo de alimentos picantes

Problemas para dormir

Falta de ejercicio físico

1.2.6.4. *Condiciones sociales*

Bajo status socioeconómico en la infancia

Antecedentes familiares de abuso de sustancias

Antecedentes familiares de enfermedad mental

Condiciones de trabajo no satisfactorias

Trabajo por turnos

Estado civil (nunca casado)

Exposición a la guerra durante la infancia

De todos los factores detallados la mayoría se basan en estudios individuales, mientras que todos los demás se han demostrado en más de un estudio (44).

En la figura 12 apreciamos el resumen de factores centrales y periféricos que afectan a la severidad de los síntomas del SII (15).

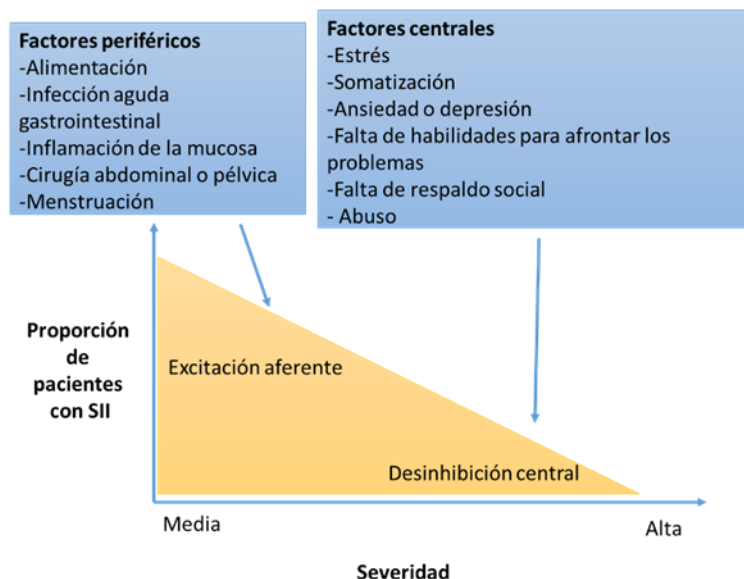


Figura 12. Factores que afectan la severidad de los síntomas del SII (Ford, 2020).

1.2.7. Etiopatogenia del síndrome del intestino irritable

La fisiopatología exacta del SII aún no está del todo determinada, pero parece estar relacionada con cambios en la motilidad gastrointestinal, en un aumento de la hipersensibilidad visceral, en la existencia de una inflamación de bajo grado en la mucosa intestinal, en la presencia de determinados trastornos ambientales, en la influencia de algunos trastornos psicosociales y por supuesto de la existencia de un desequilibrio de la microbiota intestinal (25).

En la etiopatogenia del SII ocurre una disfunción del eje intestino-cerebro. (45–47). Esta disfunción o comunicación anormal entre el cerebro y el intestino, no parece tener un único origen y es la suma de múltiples pequeños factores o desencadenantes (48). En una situación basal idónea para que el eje intestino-cerebro permanezca inalterado deben concurrir ciertos condicionantes como son la ausencia de factores genéticos subyacentes y una adecuada integridad de la mucosa intestinal. Esta integridad de la mucosa requiere de un ambiente microbiano equilibrado sin estímulos nerviosos inadecuados y un balance hormonal e inmunológico perfecto.

Cambios en la microbiota intestinal. Como se aprecia en la figura 13, hasta en un 10% de los episodios infecciosos gastrointestinales no se produce una curación total y ese disbalance creado entre las especies microbióticas es el punto de partida para el desarrollo del SII (49), si bien una reciente revisión con metaanálisis efectuada por Porcari eleva la cifra hasta un 14,5% (50). Es el denominado SII-PI (post-infección).

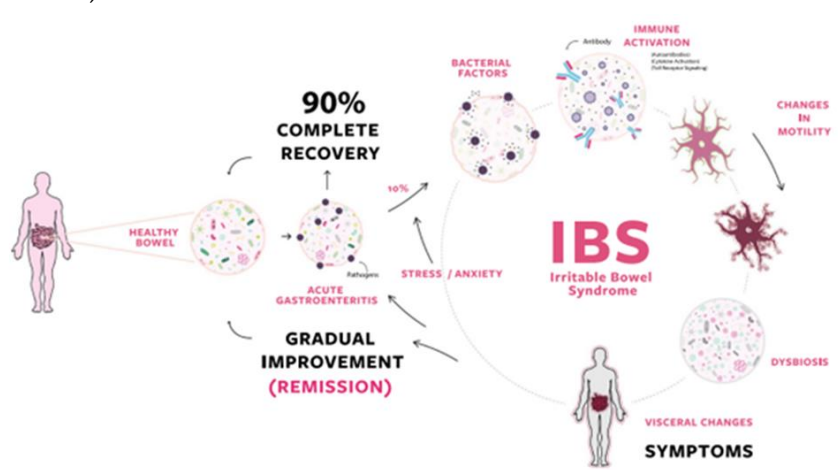


Figura 13. Hipótesis microbiana en el SII (Pimentel, 2020).

En otras ocasiones, sin embargo, el SII es considerado un trastorno biopsicosocial caracterizado por una comunicación anormal entre el cerebro y el intestino, que se ve exacerbada por diversos desencadenantes externos e internos. En primer lugar la hipersensibilidad visceral es ocasionada por estímulos nerviosos mantenidos (51,52) en el intestino, debido a hipervigilancia inducida por estrés o hiperalgesia verdadera, y conlleva a una alteración de la motilidad (53), de las secreciones y provoca la aparición de fenómenos alternativos de diarrea y estreñimiento. Estos estímulos nerviosos se asocian a procesos tales como el estrés, la depresión y la ansiedad (34,54). En otras ocasiones se observan alteraciones en las regiones cerebrales que procesan los estímulos cerebrales, lo que provoca una amplificación de este estímulo al reducir los mecanismos antinociceptivos del dolor visceral (46).

Además, se produce una respuesta distorsionada del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal, en la que participa el mediador primario de la respuesta al estrés, el factor liberador de corticotropina (55), así como la activación del sistema inmunitario a nivel de la mucosa intestinal, lo que conduce a un aumento de mastocitos y linfocitos intraepiteliales, lo que resulta en una inflamación de bajo grado (56), junto con defectos en la señalización serotoninérgica. Parece que la serotonina juega un papel importante en la estimulación gastrointestinal y podría ser la causa de inicio del SII (57), sobre todo en el SII-D en el que la biosíntesis de serotonina en las células enterocromafines y su posterior secreción, está aumentada, a partir de sus precursores, fenilalanina y triptófano que en ocasiones se encuentran aumentados como resultantes de una actividad metabólica de una microbiota alterada (58). En un estudio reciente (59), pacientes con SII presentaban elevaciones de cortisol y adrenalina y de citoquinas proinflamatorias IL-6 e IL-10, lo que conlleva una estimulación neuroendocrina que implica a su vez una estimulación inmunológica que en su conjunto puede provocar los mismos síntomas que presenta el paciente con SII.

Factores genéticos condicionan también la regulación inmunológica del microambiente de la mucosa intestinal. Así pues, individuos con un perfil genético que codifique la expresión de citoquinas proinflamatorias, tendrán también una mayor predisposición al desarrollo del SII (60), ya que desarrollarán un status

proinflamatorio inmunológico, en el que otros factores añadidos asociados al SII acelerarán el inicio de la enfermedad.

Por otro lado, ciertos alimentos actúan como inductores del SII al alterar el microambiente de la mucosa y desencadenar respuestas inmunes locales que acaban por afectar al equilibrio celular, perdiéndose la integridad al alterarse las uniones estrechas entre las células de la mucosa debido a que los factores inmunológicos ejercen su función proinflamatoria. Los alimentos tipo FODMAP (*fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides and polyols*) (61,62), así como los que contienen un exceso de sales biliares contribuyen al daño en la mucosa (63)

Así pues, cuando se produce la disbiosis (49,64,65), en un primer momento se produce una activación inmunológica a nivel celular y de la mucosa intestinal que provoca una inflamación de bajo grado junto a una mayor permeabilidad intestinal que genera pérdida de integridad de la barrera epitelial generando dolor visceral. Ese mismo dolor e hipersensibilidad visceral tiene otro mecanismo de generación neurogénico, a través del sistema nervioso entérico y que va a producir cambios en la motilidad intestinal. Todos estos efectos quedan resumidos en la figura 14.

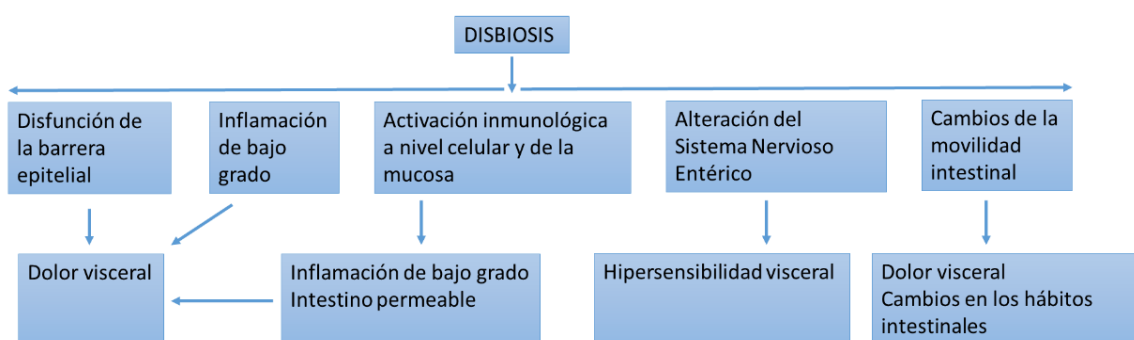


Figura 14. Consecuencias de la disbiosis (Pimentel, 2020).

En resumen y como se muestra en la figura 15, las tres principales vías de interacción que afectan al eje microbiota-intestino-cerebro son (66):

- A. Vía endocrina: afecta al eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal (HPA) y a las células entéricas endocrinas (CEE).
- B. Vía neural: constituida por el nervio vago y el sistema nervioso entérico.
- C. Vía inmune: mediada fundamentalmente por las citoquinas liberadas en las vellosidades y criptas intestinales.

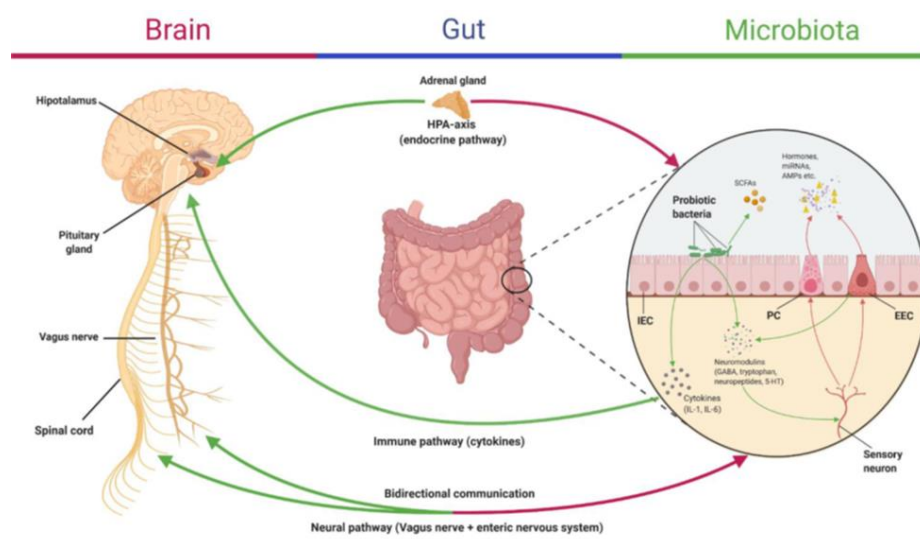


Figura 15 Vías de comunicación del eje microbiota-intestino-cerebro (Simon, 2021).

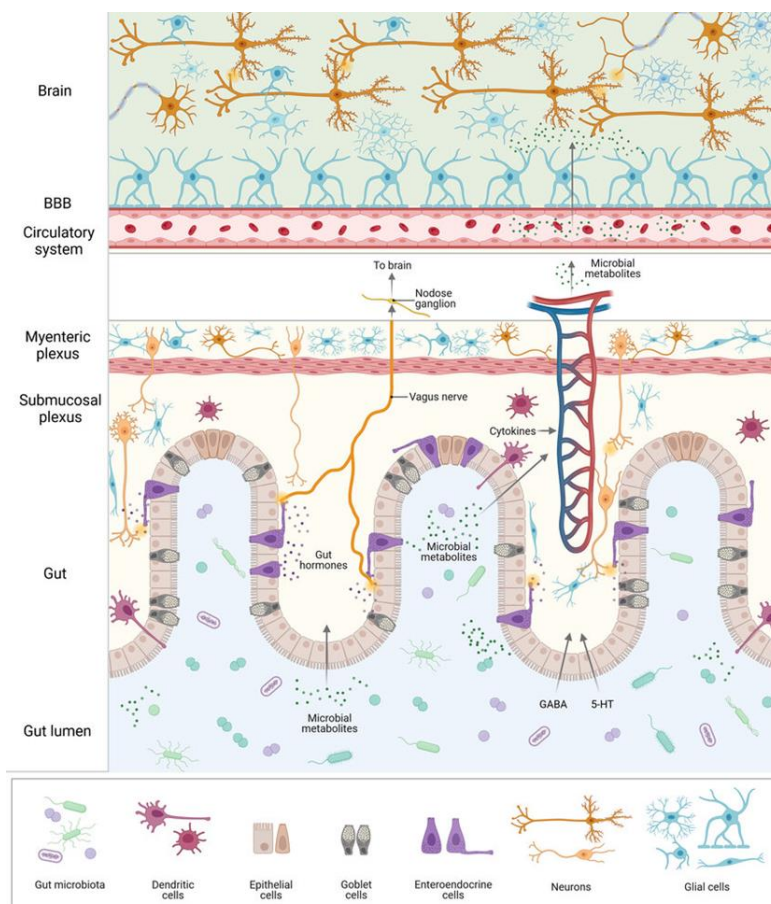


Figura 16. Influencia de los metabolitos bacterianos en el eje intestino-cerebro (Kostiuchenko, 2024.)

En los últimos años, la microbiota intestinal ha sido identificada como un actor integral en la comunicación intestino-cerebro a través de múltiples mecanismos. Las señales de la microbiota intestinal pueden modular el eje intestino-cerebro a niveles neuronales, endocrinos e inmunológicos (67). Además, cada vez hay más evidencia que respalda que la microbiota intestinal está involucrada en la fisiopatología del SII. La disbiosis, junto con la función de barrera intestinal comprometida y la inflamación de bajo grado, que influyen incluso en la actividad del sistema nervioso entérico, también son factores clave en el desarrollo de la sintomatología asociada al SII descrita anteriormente (56,68).

Como se aprecia en la figura 16, metabolitos y productos bacterianos derivados de la microbiota intestinal pueden ejercer efectos en órganos distantes, como el cerebro, a través de distintos mecanismos. En primer lugar, puede

producirse un efecto directo sobre el cerebro cuando elementos estructurales bacterianos como el lipopolisacárido o el péptidoglicano de la pared celular bacteriana atraviesan la barrera hematoencefálica. Estos compuestos pueden modificar la integridad de dicha barrera, facilitando el paso de sustancias que, en condiciones fisiológicas, no lograrían cruzarla (69–71). Por otra parte, las células enterocromafines reaccionan frente a metabolitos de la microbiota intestinal como el triptófano, estimulando los receptores tipo triptófano hidrolasa (TPH) y sintetizan serotonina (el 90% de la serotonina es sintetizada en estas células). De manera opuesta bacterias productoras de indol desdoblan el triptófano impidiendo la síntesis de serotonina, lo que limita su disponibilidad en el individuo. La microbiota intestinal contribuye a la síntesis de otros neurotransmisores como la noradrenalina, dopamina, histamina, acetilcolina y el GABA (ácido gamma aminobutírico), que mediante el sistema nervioso entérico, generan señales o estímulos que a través del nervio vago llegan al cerebro (72). Los metabolitos de la microbiota pueden influir también en el cerebro al afectar a la respuesta inflamatoria. Podemos observar una estimulación inmunológica tras la unión de PAMPs (*pathogen associated molecular patterns*) a los receptores TLR (*toll-like receptor*) de las células epiteliales intestinales, de las células musculares lisas de la pared intestinal y de las células dendríticas. Esta interacción puede desencadenar la liberación de citoquinas proinflamatorias y la activación de células inmunitarias sanguíneas (como los macrófagos) que al atravesar la barrera hematoencefálica pueden ejercer su función en el cerebro. Asimismo, los AGCC también activan receptores en las células L endocrinas encargadas de regular la secreción de hormonas (73,74), las cuales secretan hormonas como el GLP-1 y GLP-2 (*glucagon-like peptides*) y el PYY (*peptide YY*) tan de moda ahora por los tratamientos frente a la obesidad y la diabetes mellitus de tipo 2. Así pues, vemos como de nuevo una alteración en la microbiota, tiene una base fisiopatológica relacionada con enfermedades tan prevalentes como son la obesidad y la diabetes tipo 2.

A nivel intestinal la lámina propia está densamente poblada por macrófagos, células dendríticas y linfocitos(72). Estas células estimuladas por metabolitos o por alteraciones de la mucosa o las uniones estrechas entre células epiteliales intestinales van a actuar como células presentadoras de antígeno de manera que los linfocitos T se activen y se diferencien en subpoblaciones Th1, Th2, Th17 o Th

reguladoras, capaces de activar mastocitos y monocitos a nivel de la propia mucosa intestinal pero también a nivel sanguíneo. Los mastocitos liberarán histamina de sus vesículas y generarán una respuesta con edema e inflamación. Por otro lado, se estimularán otros linfocitos B que segregarán citoquinas proinflamatorias y crearán un circuito de retroalimentación positiva de inflamación e inmunidad aumentada para ayudar a eliminar el estímulo bacteriano que la indujo inicialmente.

La proliferación o sobrecrecimiento de bacterias en el intestino delgado más conocido como SIBO (*Small Intestinal Bacterial Overgrowth*) es una complicación frecuente en los pacientes con SII. Consiste en una proliferación de bacterias colónicas, mayoritariamente Pseudomonadota (*Klebsiella*, *Escherichia*) y Bacillota (*Enterococcus*) que van a provocar alteraciones en la función del sistema nervioso entérico, en la permeabilidad intestinal, aumentan la motilidad, crean una ligera inflamación (de bajo grado) y alteran la absorción de ácidos biliares (75).

En la microbiota de nuestro intestino se han identificado arqueobacterias metanogénicas, procariotas entre las que destaca *Methanobrevibacter smithii*. En caso de proliferar y elevar la cantidad de metano que producen habitualmente, pueden también potenciar los síntomas del SII, sobre todo enlentecer el tránsito fecal y provocar una baja motilidad (76).

En resumen, al estado de disbiosis se llegaría a través de una, dos o las tres vías de manera progresiva e insidiosa, de manera que si no se actúa para provocar su reversión los estímulos serían acumulativos.

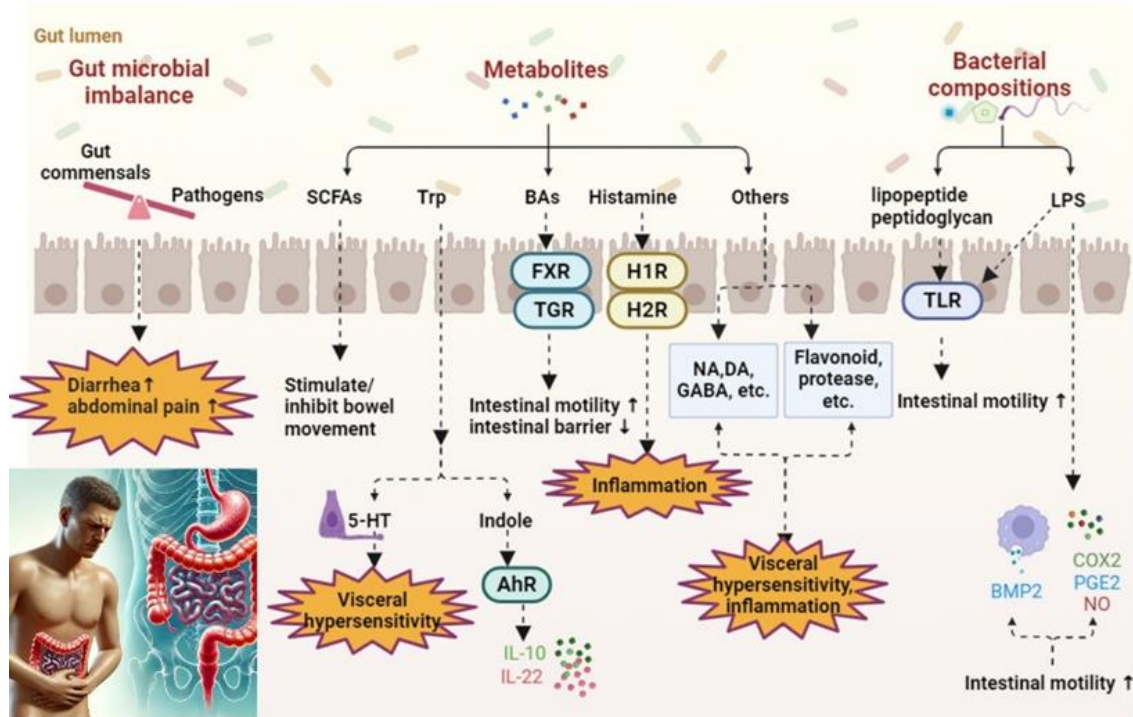


Figura 17. Papel de la microbiota intestinal en el SII (Adaptado de Zhao, 2024).

Es probable que una combinación de todos estos factores y mecanismos contribuya a una manifestación de los síntomas del SII de una manera muy variable. Esta gran variabilidad sugiere que serían diferentes los mecanismos que podrían predominar en los diferentes sujetos. Además, el modelo conceptual actual del SII considera el papel de los factores psicosociales en el aumento de la susceptibilidad a desarrollar y exacerbar los síntomas a través de las interacciones cerebro-intestino.

Como se aprecia en la figura 17, esta gran complejidad nos conduciría a una medicina personalizada en función de las características específicas de cada paciente, su hábitat, estilo de vida, status social, tipo de SII, microbiota específica, sintomatología y factores de riesgo. Así mismo el tratamiento tendrá que ser personalizado.

1.2.7.2. *Evidencia del papel de la microbiota en la etiopatología del síndrome del intestino irritable.*

Una de las mayores pruebas de la relación entre SII y microbiota intestinal ha sido la transferencia de heces de pacientes con SII a ratones *germ-free* (libres de gérmenes) (77), en los que esta transferencia induce un cuadro clínico similar al SII, incluyendo cambios en la motilidad intestinal, activación del sistema inmune innato, incremento de la permeabilidad intestinal e hipersensibilidad visceral (78). De ahí que uno de los tratamientos que podrían utilizarse para paliar la severidad del síndrome de intestino irritable sea el trasplante de microbiota fecal (TMF). El TMF induciría un alivio significativo en las molestias gastrointestinales y, por consiguiente, en la calidad de vida relacionada con el SII y en la fatiga en pacientes con SII, mediante la restauración de la microbiota gastrointestinal en los mismos.

Desde la aprobación en 2013 por la FDA (*Food and Drug Administration*) para el tratamiento de la infección gastrointestinal recurrente por *Clostridioides difficile* resistente a vancomicina, el trasplante de microbiota fecal ha despertado el interés de muchos gastroenterólogos, no sólo para el tratamiento el SII. Aunque no está considerado como tratamiento de primera elección para el SII y existen diversos estudios con resultados contradictorios (en algunos se observa una clara mejoría clínica y de la calidad de vida, en otros no se observa ningún efecto) cada vez son más los ensayos donde se incorpora este tratamiento en pacientes con SII en los que otros abordajes terapéuticos han fracasado. En un trabajo publicado en 2019 Mazzawi reseña (79) como el TMF restauró las alteraciones del microambiente intestinal en pacientes con SII-D durante las primeras 3 semanas y mejoró sus síntomas hasta 28 semanas. En otro trabajo Johnsen (80) refiere una clara mejoría de los síntomas en un ensayo clínico frente a placebo, pero requiere de aumentar la n en dicho estudio.

En un reciente trabajo de revisión (81) Wang concluye que si observa mejoría en los síntomas de los pacientes con SII pero existe un alto grado de heterogeneidad entre ellos, mientras que por el contrario en otras 2 revisiones realizadas en 2019 por Xu (82) y Myneedu (83) no se concluyó que los pacientes con SII mejoraran de manera objetiva y/o significativa.

En la actualidad existen bancos de heces en diferentes hospitales a lo largo del país, donde donantes seleccionados con unos criterios de selección muy exigentes depositan sus heces. Tras un procesado de las mismas se liofilizan y se

encapsulan de manera que los pacientes seleccionados para recibir el tratamiento pueden tomarlo de manera oral. Otro procedimiento consiste en obtener una suspensión fecal con los microorganismos y depositarla en diferentes lugares del intestino mediante colonoscopia como se detalla en la figura 18.



Figura 18. Esquema de preparación del trasplante de microbiota fecal (Mazzawi, 2022).

1.2.8. Composición normal de la microbiota intestinal

La microbiota intestinal es un término colectivo que designa al complejo ecosistema intestinal de microorganismos, que incluye bacterias, virus, hongos y protozoos. Las bacterias predominan y constituyen más del 99 %, de ahí el nombre de microbiota intestinal (84).

La aparición a finales del siglo XX de las ciencias –ómicas y la tecnología de secuenciación masiva (NGS) ha permitido revolucionar el diagnóstico microbiológico con la caracterización en el tracto gastrointestinal de más de 1000 especies diferentes pertenecientes a 10 filos diferentes respecto a las 40 especies de 4 filos detectables por las técnicas de cultivo microbiológico tradicionales (85).

Con la instauración de los proyectos *The Human Microbiome Project* (86) que partió de la iniciativa norteamericana del *National Institute of Health* en el año 2007 y la iniciativa posterior de la Unión Europea conocida como Metahit (*Metagenomics of the human intestinal tract*) (87) se han elaborado estrategias para avanzar en el conocimiento de los componentes microbianos del panorama genético y metabólico humano y cómo estos contribuyen a la fisiología normal y a la predisposición a muchas enfermedades.

Esta microbiota intestinal posee unas características únicas que la han llegado a considerar como un órgano más del cuerpo humano. Está constituida por billones de microorganismos y se considera que un ser humano posee más microorganismos que células propias, de tal manera que en un humano tipo de 70kg y 1,75m de estatura puede llegar a pesar unos 300 g, y la ratio bacteria/célula humana puede oscilar entre 1.3 y 1.

En un individuo podemos encontrar microbiota en diferentes localizaciones siendo las más relevantes boca, piel, vagina, aparato respiratorio y tracto gastrointestinal, cada una con su composición diferencial. El 95% de los microorganismos de un individuo se hallan en el tracto gastrointestinal de tal forma que se considera uno de los ecosistemas más densamente poblados de todo el planeta, calculándose que la superficie de todo el tracto gastrointestinal oscila entre 250 y 400 m² (88). Como se observa en la figura 19, en el tracto gastrointestinal predominan los filos Bacillota, Bacteroidota, Actinomycetota (90-95% entre los tres primeros) (89) y Pseudomonadota, a nivel de familia Lachnospiraceae, mientras

que a nivel de género destacan *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium*, *Roseburia* y *Alistipes* entre otros (90).

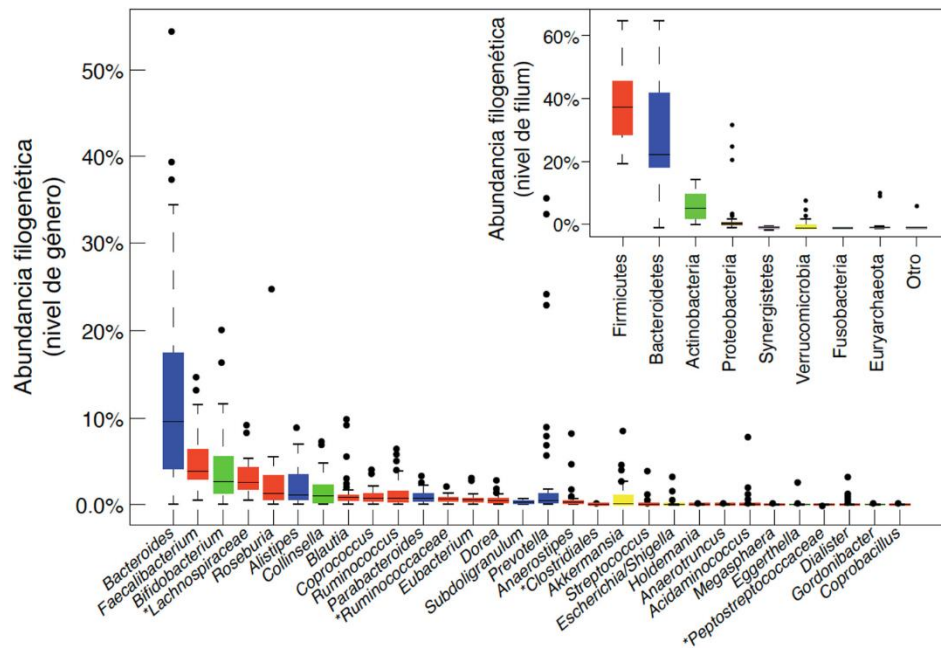


Figura 19. Abundancia de las especies en el intestino humano a nivel de filo y de género (Álvarez, 2021).

1.2.8.1. Enterotipos humanos de la microbiota intestinal

En humanos existen 3 enterotipos intestinales distintos, con composiciones diferentes y condicionadas sobre todo por la dieta de sus hospedadores. Actualmente esta clasificación se considera algo simplista (91) y no se debe hablar de enterotipo tan sólo, sino que debemos citarlo en un contexto de factores como se recogen en la figura 20, porque corremos el riesgo de simplificar en exceso todos los factores que influyen realmente en dicha composición.

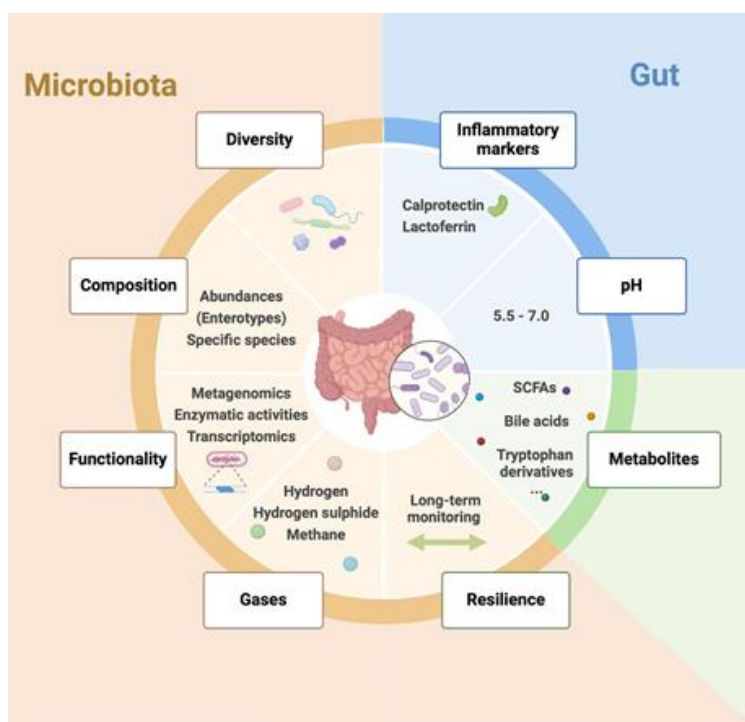


Figura 20. Marcadores potenciales de un microbioma saludable (Van Hul, 2024).

En esta representación los enterotipos quedan sólo como los subtipos de microbiota en función de la composición microbiana.

Los principales enterotipos (92) no dejan de ser sino robustos *clusters* o grupos de clasificación, como se aprecia en la figura 21.

Enterotipo 1 o *Bacteroides*: es un enterotipo que se suele detectar en aquellas personas que siguen una dieta alta en proteínas, como es el caso de los deportistas, o de grasas. Por lo tanto, se consumen muchos alimentos de origen animal. Este enterotipo es el más frecuente en población europea alcanzando al 56% de la misma.

Enterotipo 2 o *Prevotella*: es habitual que este enterotipo esté relacionado con un consumo de fibra elevado y, en ocasiones, se observa en personas que siguen una dieta vegetariana donde predominan los alimentos de origen vegetal. Constituye el segundo enterotipo en prevalencia en Europa con un 37% de la población.

Enterotipo 3 o *Ruminococcus*: es uno de los enterotipos más comunes y en el que hay un consumo moderado de alimentos de origen animal y vegetal, sin excederse. Por tanto, hay una mayor diversidad y riqueza microbiana. Pese a ser el más adecuado y equilibrado es el menos frecuente en nuestro continente y tan sólo se encuentra en el 13% de los europeos.

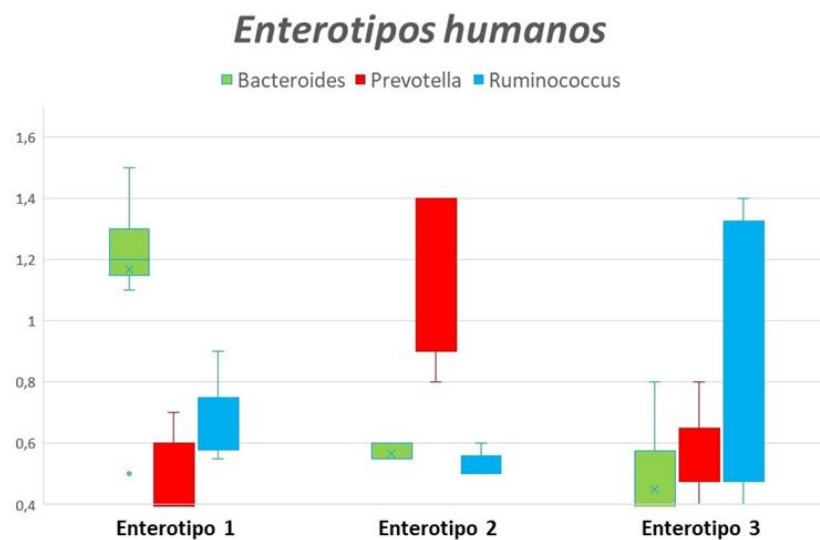


Figura 21. Enterotipos humanos (Adaptado de Arumugaman, 2011).

La composición de la microbiota no es constante a lo largo de la vida de los humanos, alcanzando la máxima diversidad y abundancia en la edad adulta (88), aunque a los tres años de edad la diversidad es ya muy similar a la del adulto.

En el nacimiento es a través del canal del parto cuando el recién nacido adquiere las primeras especies de *Lactobacillus* y a través de la leche materna se aportan especies de *Bifidobacterium* y una gran variedad de galactooligosacáridos (GOS) que van a favorecer la proliferación de estos microorganismos. Este tipo de transmisión vertical de microbiota no se produce en nacimientos por cesárea y en niños alimentados con leches artificiales. Curiosamente en los niños nacidos por cesárea se detectan especies pertenecientes al personal que atiende el parto y otras especies colonizadoras de la piel (principalmente *Bacillota*). Como alternativa se

está haciendo ingerir flujo vaginal de la madre, frotando la boca, la cara y el cuerpo del recién nacido como alternativa terapéutica a este tipo de carencia.

La dieta es el principal aporte de microbiota en el desarrollo del niño, de tal forma que conforme se van introduciendo nuevos alimentos en la dieta, nuevas especies colonizan su intestino (Bacillota, Bacteroidota y Pseudomonadota (93).

Existe un mecanismo de transmisión horizontal que se produce por convivencia directa con más individuos en el hogar, por contacto con mascotas y animales y por vivir en un entorno rural. Esto favorece la abundancia y la diversidad.

En el adulto el tipo de dieta también va a ser uno de los principales moduladores de la microbiota. Una dieta mediterránea basada en frutas, verduras y legumbres sería la base de una microbiota saludable y variada, mientras que la denominada dieta Occidental (rica en grasas saturadas, hidratos abundantes, salsas y alimentos procesados y bebidas azucaradas) iría en dirección opuesta con una microbiota menos abundante y proinflamatoria.

Con el paso del tiempo en pacientes de mayor edad empezamos a encontrar una pérdida de la abundancia y de la diversidad, que se va acentuando a lo largo de la vida.

1.2.8.2. *Las tres líneas de defensa de un intestino “sano”*

Una microbiota considerada sana será el resultado de un balance entre factores propios del individuo (intrínsecos) y externos/ambientales (extrínsecos) que interaccionan entre sí y se mantienen en un equilibrio dinámico.

Los principales factores intrínsecos son los relativos a la edad, la manera de nacer, la funcionalidad del sistema inmune, las capacidades metabólicas del hígado y de sintetizar lípidos y los factores genéticos.

En cuanto a los factores extrínsecos el principal es la dieta, la higiene personal, el estilo de vida, la práctica deportiva, el estrés, los patrones de sueño, la exposición a tóxicos y contaminantes ambientales y a gérmenes y por último las interacciones sociales.

En la figura 22 observamos cómo este equilibrio va a tener como garante hasta 3 líneas defensivas, la microbiota intestinal, la barrera intestinal y el hígado.

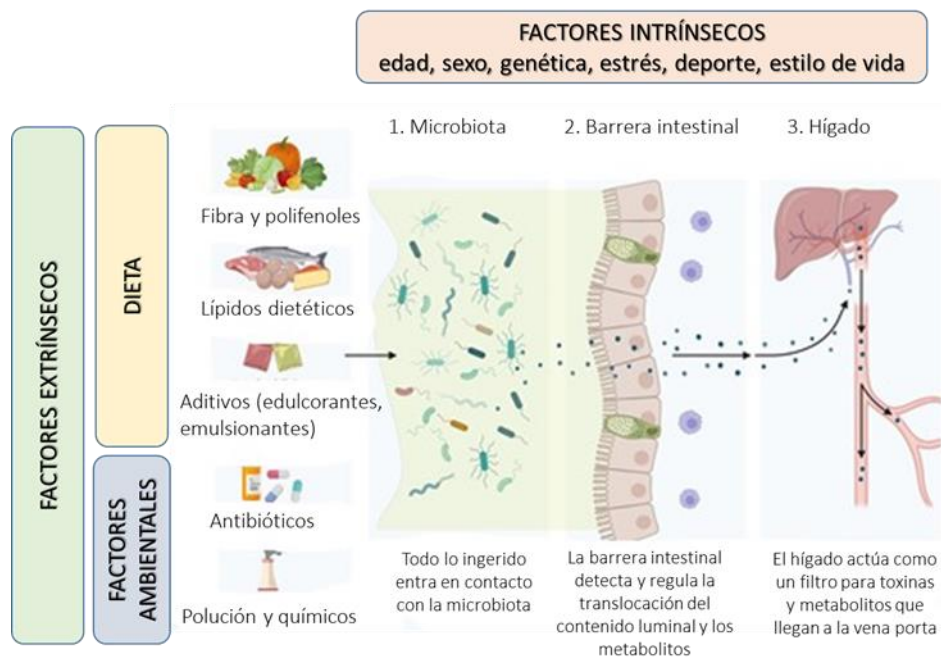


Figura 22. Las tres líneas de defensa del equilibrio saludable intestinal (Adaptado de Van Hul, 2024).

1.2.8.2.1. Línea defensiva 1. La microbiota intestinal.

En este microhábitat el mencionado equilibrio no debe alterarse. Así pues, la microbiota actúa como tampón regulador de pH (entre 5,5 y 7), permitiendo sobreexpresar algunas poblaciones y restringiendo la abundancia de otras, en función de la dieta y otros factores del equilibrio, como la producción de gases que va a depender de la fermentación de los componente de la dieta y de las especies colonizantes. De la misma manera que con el pH, el intestino “sano” equilibra la producción de gases gracias a las abundancias relativas de especies de la microbiota. La producción de los diferentes metabolitos es clave en la salud intestinal. Los principales productos son los AGCC, los ácidos biliares y el triptófano. La propia composición de la microbiota estará determinando al intestino, de tal manera que en un intestino sano encontraremos una mayor diversidad bacteriana y un menor predominio de especies dominantes. Las propias

características de la microbiota como son la resiliencia y la redundancia funcional influyen en mantener el equilibrio con mayor facilidad. La ausencia de marcadores de inflamación también va a ser un indicio de que nos encontremos ante un intestino sano.

1.2.8.2.2. Línea defensiva 2. La barrera intestinal.

La segunda línea de defensa está compuesta por una barrera formada por células intestinales, moco, uniones estrechas, células inmunes y péptidos antimicrobianos que ejerce de separación entre el medio interno y externo. La integridad de esta barrera será la garante de un intestino sano. De nuevo es necesario un equilibrio entre todas las piezas del puzzle y la presencia de microorganismos patógenos y/o estímulos perniciosos que pretendan alterar dicho equilibrio.

1.2.8.2.3. Línea defensiva 3. El hígado.

El hígado va a formar la tercera línea defensiva como el órgano encargado de la detoxificación de las toxinas bacterianas y la regulación de los metabolitos y sus derivados, así como de modular la respuesta inmune a nivel local y sistémico.

1.2.8.3. *Características y funciones de la microbiota intestinal.*

La microbiota intestinal posee una serie de características propias muy importantes entre las que destacaríamos:

Resiliencia: capacidad de resistencia al cambio de la composición de la propia microbiota, que si se vence puede dar a dos situaciones muy diferentes, disbiosis como hemos comentado anteriormente (proceso de alteración) o a una nueva microbiota beneficiosa como resultante de una dieta adecuada persistente en el tiempo.

Redundancia funcional: los genes de muchas de las especies que forman la microbiota intestinal tienen una misma función. Ello permite al que variaciones en la composición no afecten al ecosistema y al individuo.

Estas características nos permiten resistir sin alteraciones a pequeñas variaciones de la composición de la microbiota o de una duración no demasiado

larga, porque traspasado el denominado umbral de resiliencia sí se produce el cambio en la microbiota, se inicia la disbiosis y se pueden iniciar las primeras alteraciones.

Las principales funciones de la microbiota intestinal se pueden agrupar en tres, protectora, metabólica y estructural.

- A. La función estructural está basada en el mantenimiento de la capa de moco que segregan las células secretoras intestinales. Con ello favorecen el mantenimiento de la integridad de la mucosa intestinal, regularizando las uniones estrechas entre dichas células, favoreciendo la microvascularización y el desarrollo de las propias criptas y vellosidades intestinales.
- B. La función protectora es ejercida fortaleciendo la barrera intestinal por la síntesis de bacteriocinas, H_2O_2 y ácidos orgánicos. Colabora en el desarrollo y maduración del sistema inmune fortaleciendo la inmunidad innata y adaptativa. También protege nuestro intestino compitiendo con los patógenos por alimento y hábitat, desplazándolos y evitando su agregación y proliferación.
- C. La función metabólica se desarrolla por la biosíntesis de vitaminas (K, grupo B) y aminoácidos, colaborando en la biosíntesis de hormonas y neurotransmisores. Participa en la detoxificación de los ácidos biliares y otras moléculas exógenas. Es la encargada en exclusiva de la fermentación de la fibra dietética, formada por carbohidratos complejos no digeribles y es imprescindible en la síntesis de AGCC.

1.2.9. Composición y descripción de la microbiota en pacientes con síndrome del intestino irritable.

Cada vez hay más evidencias que sugieren que la disbiosis microbiana conduce al desarrollo del SII. En la bibliografía encontramos estudios que evalúan las alteraciones de la microbiota en pacientes con SII, aunque mayoritariamente se basan en el estudio de la microbiota fecal, mientras que sólo unos pocos

investigaron tanto la microbiota de la mucosa como la fecal (94–96). El análisis comparativo de la secuenciación del gen *16S rARN* reveló diferencias estructurales entre la microbiota fecal y la microbiota de pacientes con SII, con una correlación significativa entre ambas.

Las muestras fecales mostraron niveles más altos de Bacillota y Actinomycetota mientras que la microbiota de la mucosa fue más rica en Bacteroidota y Pseudomonadota (97).

Muy pocos de estos estudios han mostrado una firma microbiana específica del SII, que no se han logrado replicar en estudios más amplios (98–101). Varios estudios, pero no todos, han demostrado que la diversidad microbiana general en muestras de heces de pacientes con SII es menor en comparación con la de individuos sanos(97).

El primer estudio dirigido a caracterizar la microbiota de pacientes con SII mediante técnicas moleculares se realizó en 2007. Este estudio reveló diferencias significativas en la microbiota fecal entre pacientes con SII y controles sanos, en varios géneros bacterianos como *Coprobacillus*, *Collinsella* y *Coprococcus*(102).

En 2010 uno de los primeros estudios sobre la microbiota en el SII encontró una menor colonización en pacientes con SII que en controles sanos (94).

Al año siguiente, en 2011, se describe por primera vez, un aumento del ratio Bacillota/Bacteroidota en pacientes con SII a expensas de los aumentos de *Dorea*, *Ruminococcus* y *Clostridium spp* con descenso asociado de *Bacteroides* y *Bifidobacterium* (103).

Un estudio realizado por Jeffery en 2012 confirmó esta alteración del ratio Bacillota/Bacteroidota con depleción asociada de *Bacteroides spp* en la población SII (104). Sin embargo, en otro estudio que evaluaba la respuesta a un probióticoj, los resultados fueron los contrarios, encontrando un aumento de Bacteroidota en pacientes con SII (105). Por otro lado, de nuevo Jeffery pero en 2020 estudiando la microbiota de pacientes con malabsorción de ácidos biliares que incluyó a 80 pacientes con SII y 65 controles sanos, detectó una mayor abundancia de *Ruminococcus gnavus* y *Lachnospiraceae*, así como niveles más bajos de *Barnesiella instestinihominis* y *Coprococcus catus* en la microbiota fecal de pacientes con SII (106). Estos hallazgos coinciden con otras investigaciones que identificaron una mayor

abundancia de Ruminococcaceae, Bacteroidota y Lachnospiraceae en personas con SII (98,103,104).

Parece que la severidad de los síntomas de los pacientes con SII correlacionaba inversamente con la alfa diversidad y la riqueza de la microbiota con predominancia de Clostridiales y especies de *Prevotella* (98). En un estudio que analizó amplicones pertenecientes a pacientes con SII de diversos países frente a amplicones de controles sanos (con el objetivo de crear un grupo con una n mayor) se observó aumento de Pseudomonadota y *Streptococcus* en el grupo SII, pero la heterogeneidad entre los países y las características de los pacientes y controles deja muchas posible fuentes de variación y no se establece una firma microbiana robusta (107).

El primer metaanálisis que se encuentra en la bibliografía fue realizado por Zhuang (108), pero por incluir estudios con metodología obsoleta no tenemos en consideración sus resultados.

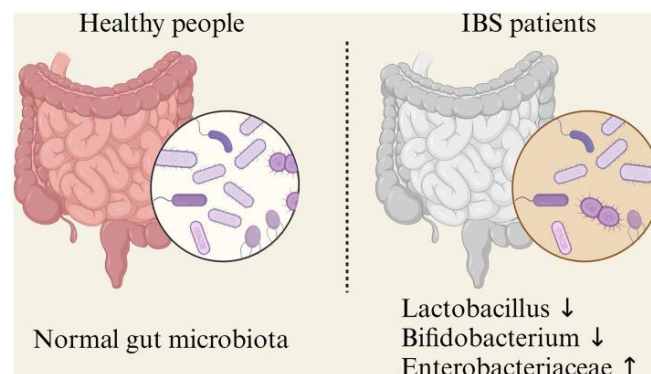


Figura 23. Principales alteraciones de la microbiota en el SII (Cheng, 2024).

En un segundo metaanálisis realizado por Liu en 2017, aparte de apreciar una disminución de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* en pacientes con SII, se postula por primera vez si los diferentes subtipos de SII pueden tener patogénesis diferentes, de manera que la disminución comentada de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* es más frecuente en el SII-D. Además, se relaciona el SII-E con un aumento de especies metanogénicas (109).

En la revisión de 2019 realizada por Duan, que utiliza la secuenciación del gen *16S rARN*, se confirma disminución de la alfa diversidad en la microbiota fecal de pacientes con SII (99). En la mayoría de estudios hay aumento de Bacillota y descenso de Bacteroidota, con aumento de la ratio Bacillota/Bacteroidota a nivel de filo. También hay aumento de Clostridia y de Pseudomonadota, a expensas de la familia Enterobacteriaceae. A nivel de familia y de género *Lactobacillus* aumenta. La disminución de Bacteroidota se sustenta en el género *Prevotella*.

En otro metaanálisis de 2020, Agnello (110). Refleja una mayor abundancia del género *Streptococcus* que ha sido previamente informado en la enfermedad inflamatoria intestinal (111). y en el SII-D (102). Este hallazgo relacionaría a *Streptococcus agalactiae* con la disfunción intestinal que aparece en las dos enfermedades referidas. La presencia de *Clostridium perfringens*, patógeno entérico, se asoció con el SII-PI (112) .

En la magnífica revisión de los doctores Singh y Lembo (113), se aportan estudios como el de Rangel (114) que utilizando microarrays genómicos en muestras fecales y de mucosa intestinal detectaban aumentos de Actinomycetota, Bacilli, *Clostridium* y Pseudomonadota mientras el descenso informado fue de Bacteroidota, siempre en las muestras fecales, pero con grandes diferencias entre las muestras. En el trabajo de Maharshak de 2018 (115) con muestras fecales y de mucosa pero con secuenciación del gen *16S rARN*, se observaba descenso de la riqueza en las muestras fecales pero tan sólo descenso de *Faecalibacterium* en SII-D y aumento de *Dorea* en SII-D también. Se discute también un trabajo de investigación de Vich Vila con secuenciación metagenómica de muestras fecales que confirma el aumento del filo Actinomycetota y descenso de Bacteroidota (116).

En una revisión muy reciente (117) realizada por el doctor Cheng, se reafirma que a nivel de filo, la mayoría de estudios muestran que Pseudomonadota aumenta en los pacientes con SII (114), como se aprecia en la figura 23, mientras que en otros trabajos los pacientes con SII tienen un número reducido de especies de *Lactobacillus*, mientras que la abundancia de *Ruminococcus gnavus* y Lachnospiraceae es significativamente mayor. Aunque algunas investigaciones indican que no hay diferencias entre los pacientes con SII y los controles (118), las investigaciones sobre los otros tres filos (Bacteroidota, Actinomycetota y Bacillota) muestran resultados variables.

Aunque existe una heterogeneidad significativa en los hallazgos de estos estudios, otro metaanálisis (113) mostró una sobreabundancia del filo Bacteroidota y las familias Lactobacillaceae y Enterobacteriaceae en pacientes con SII en comparación con controles sanos. También parece haber una abundancia reducida de los géneros *Faecalibacterium* y *Bifidobacterium*.

Como se aprecia en la figura 24, el estudio de Pittayanon (119) describe un incremento de *Escherichia coli* y *Lactobacillus* en pacientes con SII de China. Además, hubo incrementos en *Bacteroides* y descenso de *Bifidobacterium* en población global. Otros autores detectaron una disminución de *Faecalibacterium prausnitzii* (109).

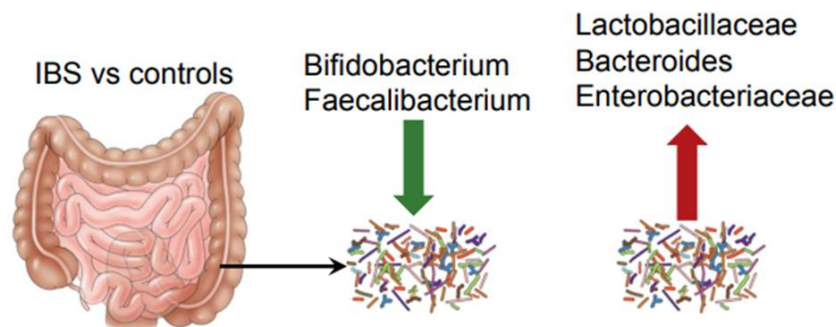


Figura 24. Diferencias en la composición de la microbiota entre controles sanos y pacientes con SII (Pittayanon, 2019).

Varios autores señalan discrepancias en los perfiles de microbiota fecal entre los subtipos de SII. Algunos estudios señalan discrepancias en los perfiles de microbiota fecal entre los subtipos de SII. Algunos estudios no informan de diferencias en la composición de la comunidad microbiana entre SII-E y SII-D (99,119), mientras que otros estudios asociaron diferentes subtipos de SII con una firma microbiana individual (101). Si analizamos el SII por subtipos, en el SII-D se ha mostrado una sobreabundancia del filo Bacteroidota y una disminución del género *Bifidobacterium* (64,100). El SII-D se caracteriza con una reducción significativa de la diversidad y un incremento potencial de bacterias perjudiciales como Pseudomonadota y bajo número de Actinomycetota y Bacteroidota, comparado con los niveles en el SII-E (64). Destaca la reducción de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, por su capacidad de ejercer efectos bactericidas frente a patógenos

y promover la inmunotolerancia a través de la producción de metabolitos, como los ácidos orgánicos y los AGCC. En el caso del SII-E, usualmente se asocia con grandes cantidades de Bacillota, pero no con una reducción tan grande de la alfa diversidad como ocurre en el SII-D (120).

Aunque algunos estudios han encontrado una asociación entre grupos específicos de bacterias y la severidad de la enfermedad (98,121), estos hallazgos no han sido replicados de manera consistente por estudios adicionales, probablemente debido a limitaciones significativas de estos estudios: heterogeneidad de pacientes con SII (incluidos subtipos), estudios de un solo centro con un tamaño de muestra pequeño y falta de metadatos sobre controles sanos (es decir, si eran de la misma edad o género).

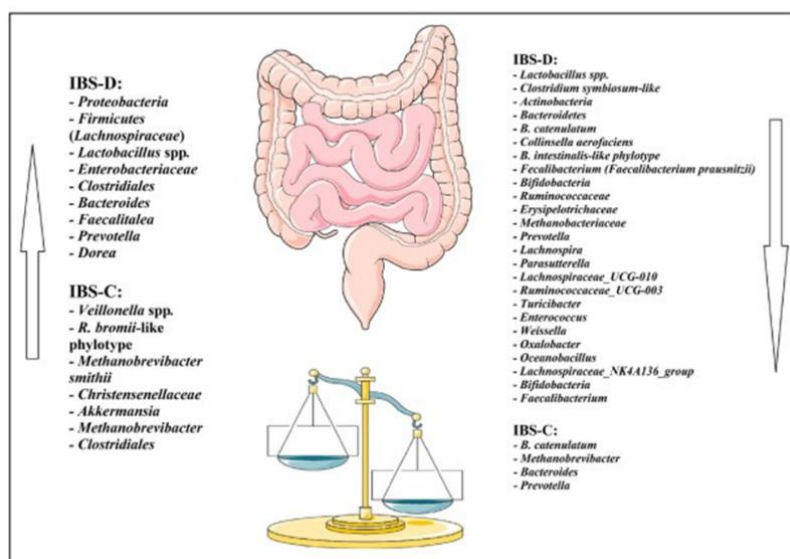


Figura 25. Cambios en la microbiota de los diferentes subtipos de SII (Surdea-Blaga, 2024).

En otro metaanálisis muy reciente y como se observa en la figura 25, si analizamos los cambios en profundidad en función del subtipo de SII, volvemos a constatar la falta de heterogeneidad de los estudios y la falta de una firma microbiótica reproducible (122), como se constata en un estudio realizado en China (107,123) con pacientes con SII-D frente a controles sanos.

1.2.10. Tratamiento del síndrome del intestino irritable.

Con todas las evidencias comentadas hasta ahora parece razonable pensar que cambios en la composición de la microbiota intestinal van a influir en la progresión y en la curación o al menos atenuación de los síntomas del SII.

1.2.10.1. Dieta

El control dietético de los pacientes con SII ha sufrido una evolución permanente desde las primeras recomendaciones del NICE (*National Institute for Health and Care Excellence*) (124), donde se recomendaban unos cambios en el estilo de vida con incremento del ejercicio, dieta y medicación basado en los síntomas.

Más recientemente en una revisión y metaanálisis de 12 ensayos (61), aplicaron la dieta baja en FODMAP disminuyendo los síntomas y la severidad de los mismos utilizando como medida el índice IBS-SSS (*Intestinal Bowel Syndrome Severity Scoring System*). Sin embargo, no parece funcionar por igual en todos los subtipos de SII. Otros estudios demostraron que la dieta baja en FODMAP reduce los niveles de *Bifidobacterium* y en general la carga bacteriana global (60). No obstante, los beneficios, principalmente inmunomoduladores, que aporta la dieta mediterránea mejoran la sintomatología de pacientes con SII (62).

1.2.10.2. Probióticos, prebióticos, simbióticos y postbióticos

El empleo de todos estos preparados alimenticios no está validado por la AGA (*American Gastroenterological Association*) (125) para el tratamiento del SII, en estos momentos, ni por el ACG (*American College of Gastroenterology*) (126), fundamentalmente porque es necesario replicar a gran escala los prometedores resultados que se han obtenido en los ensayos clínicos aleatorizados que se han efectuado hasta la fecha. En una revisión de 2020 para la AGA, evaluando especialmente el efecto de los probióticos, Preidis (127) insiste en evaluar el efecto de los probióticos con estudios multicéntricos, pero poniendo el foco en la cepa utilizada, el tiempo de tratamiento, la carga bacteriana del preparado probiótico y si se usan o no, tratamientos concomitantes.

Los probióticos son preparados orales que contienen microorganismos activos que pueden colonizar el tracto intestinal si se suministran con la

concentración necesaria y el tiempo suficiente. Hasta la fecha preparados probióticos que contienen diferentes microorganismos (*Lactobacillus plantarum*, *Bacillus coagulans*, etc) o mezclas multimicroorganismo, han sido efectivos en SII-D, al mejorar la calidad de vida de los pacientes al conseguir disminuir el dolor abdominal y la frecuencia de movimientos intestinales (128).

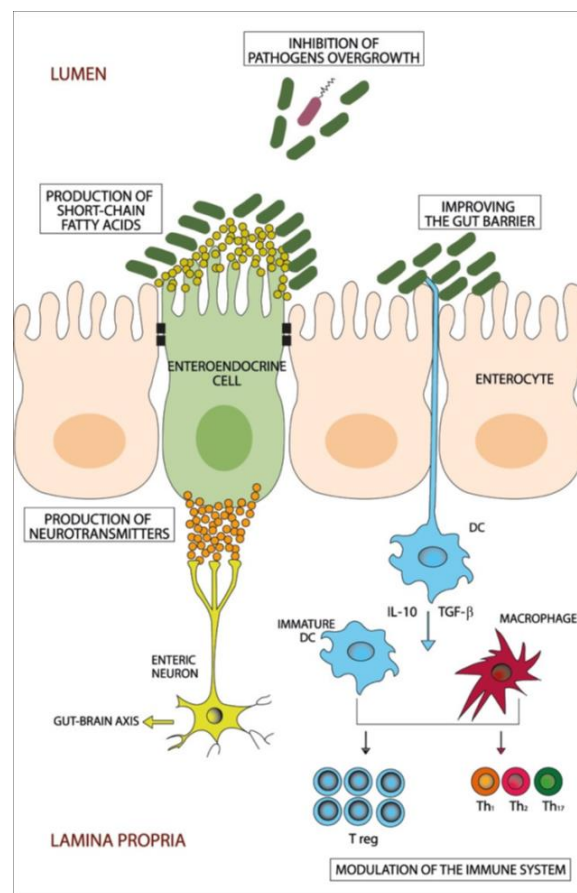


Figura 26. Diagrama que muestra los posibles efectos beneficiosos de los probióticos en el intestino (Mazzaavi, 2022).

Los probióticos manipulan beneficiosamente el intestino disbiótico a través de diferentes mecanismos que incluyen la inhibición del crecimiento excesivo de patógenos, la mejora de la barrera intestinal, la producción de ácidos grasos de

cadena corta y de neurotransmisores y por último modulando las funciones del sistema inmunológico, como se aprecia en la figura 26 (118).

Los prebióticos son alimentos no digeribles por el ser humano pero que sirven para promover de manera selectiva el crecimiento o la actividad de bacterias de la microbiota de manera que modulan los síntomas del paciente.

Los simbióticos serían simplemente una mezcla de pre y probióticos con las ventajas de ambos y finalmente los postbióticos constituyen una serie de sustancias activas que producen las bacterias como los ácidos grasos de cadena corta, vitaminas y bacteriocinas.

1.2.10.3. *Antibióticos*

Una nueva aproximación al tratamiento del SII sería el reinicio o “reseteo” de la microbiota intestinal mediante el uso de antibióticos. En la actualidad aunque se han probado diferentes antibióticos para tratar el SII (neomicina, norfloxacin) aliviando sus síntomas (129), tan sólo la rifaximina está autorizada por la FDA en estos pacientes, a dosis de 550 mg, 3 veces al día durante 2 semanas (126). El empleo indiscriminado de antibióticos tiene muchos inconvenientes, creación de resistencias antibióticas, efectos adversos gastrointestinales y disbiosis severa.

1.2.10.4. *Trasplante de microbiota fecal*

Como hemos comentado anteriormente el TMF sería una opción para el tratamiento del SII donde otros abordajes terapéuticos han fracasado

En definitiva y como conclusión el tratamiento sintomático del SII será más efectivo si además actúa sobre la fisiopatología del mismo. Sea a partir de la propia dieta del paciente, por el uso de antibióticos o todas las variedades de pre, post o simbióticos, incluso del TMF en último recurso, el conocimiento de la microbiota intestinal antes y después del mismo va a ser crucial tanto en el diagnóstico como en la monitorización de estos tratamientos.

Se necesitan investigaciones futuras para comprender mejor el papel de la microbiota intestinal en pacientes con SII y para comprender la génesis del dolor visceral. La identificación de biomarcadores para predecir la respuesta al

tratamiento también es esencial. También se necesitan grandes ensayos comparativos directos que comparen diferentes modalidades terapéuticas para brindar una mejor atención individualizada.

II – JUSTIFICACIÓN

II - JUSTIFICACIÓN

En este capítulo de la tesis doctoral presentaré el estudio realizado ensalzando lo actual y relevante del mismo. Así mismo destacaré la importancia creciente que está alcanzando el conocimiento del eje intestino-cerebro-microbiota y cómo la alteración del equilibrio entre la microbiota y el hospedador (lo que se conoce como disbiosis) desempeña un papel clave en la fisiopatología del síndrome del intestino irritable. Aunque los estudios sobre el tema se han incrementado en los últimos tiempos, existe una gran heterogeneidad entre ellos y no se ha definido una firma microbiótica concreta en esta patología. Este eje intestino-cerebro-microbiota se rige por un equilibrio multifactorial muy complejo.

La aparición de la NGS a partir de los productos de amplificación de las regiones variables del gen *16S rRNA* (130,131) nos ha permitido caracterizar de forma cualitativa y cuantitativa la composición de la microbiota bacteriana de enfermos con diferentes patologías relacionadas con las alteraciones del eje intestino-cerebro o TFD. Caracterizar el patrón de disbiosis nos ayudaría a entender la fisiopatología del SII, facilitaría el diagnóstico y nos ayudaría a diseñar estrategias terapéuticas enfocadas en el diseño de probióticos, prebióticos o simbióticos, por un lado, o a aplicar un trasplante de materia fecal en casos resistentes a otros abordajes terapéuticos por otro. Como las alteraciones del eje intestino-cerebro son multifactoriales, la interpretación de las alteraciones se antoja compleja, aparte de la gran variabilidad interindividual que podemos encontrar.

Como alternativa a un costoso estudio prospectivo hemos optado por realizar un estudio observacional de dos grupos, uno de enfermos de SII y otro de controles sanos, pero de una misma área geográfica, en la que, al compartir muchas características, pensamos que las diferencias entre ambos grupos podrán ser atribuibles a la diferente microbiota encontrada, más que a otros factores enmascarantes. Por todo ello, pensamos que es un abordaje muy adecuado.

En nuestro trabajo elegimos el SII por varias razones, la primera es porque se trata del TFD de mayor prevalencia a nivel mundial llegando a afectar entre el 5% y el 10% de la población mundial, aplicando los actuales y más restrictivos criterios diagnósticos de Roma IV (4).

En segundo lugar, por la gran repercusión que provoca, sobre todo, en la calidad de vida de los pacientes. Aunque no se trata de una patología grave es una enfermedad crónica cuyo diagnóstico es mayoritariamente sintomático y con amplias comorbilidades que asociadas a los principales síntomas (alteración de los hábitos intestinales, flatulencia y dolor abdominal) producen una notable disminución de la calidad de vida (6).

En tercer y último lugar por el enorme coste económico que supone, sobre todo por la gran cantidad de recursos sanitarios que demandan estos pacientes (consultas, tratamientos, pruebas complementarias), coste que se ve agravado e incrementado por el absentismo y la baja productividad laboral de los mismos sin menospreciar los importantes efectos que se constatan en estos pacientes a nivel social y personal (35).

En definitiva, ampliar el conocimiento de la microbiota intestinal que presentan los pacientes de SII, implica en un futuro mejorar su diagnóstico o tratamiento, y en definitiva, mejorar su calidad de vida.

La gran producción científica de estos últimos años ha venido a reforzar el papel que las alteraciones de la composición de la microbiota intestinal ejercen en el eje intestino-cerebro y por extensión en la fisiopatología del SII. Aunque no disponemos de biomarcadores objetivables de la enfermedad, se han demostrado evidencias sobre la fisiopatología del SII por el sobrecrecimiento bacteriano en el intestino (75), por la prevalencia de unas especies minoritarias sobre otras en diferentes momentos o por el efecto que los metabolitos bacterianos ejercen a nivel del eje (69).

De esta manera, a través del eje intestino-cerebro-microbiota la disbiosis va a generar hasta tres respuestas diferentes (67). La primera va a suponer un aumento de la estimulación inmunológica (72), (a nivel celular con los mastocitos, células dendríticas y linfocitos T y B y a nivel humoral con la estimulación de citoquinas proinflamatorias). La segunda respuesta es a nivel nervioso a través del nervio vago de manera directa (como el polisacárido bacteriano tisular) o a través del sistema nervioso entérico (como por ejemplo hace el estrés) transmitiendo impulsos nerviosos y generando aumento del peristaltismo y la motilidad, de las secreciones, de la hipersensibilidad visceral y del dolor (48). La tercera respuesta es a nivel

hormonal, ejercida por la serotonina secretada por las células cromafines y por el GLP-1 y el péptido YY de las células L neuroendocrinas y por el factor liberador de corticotropina como respuesta al estrés a través del eje hipotalámico-hipofisario adrenal (55). Estas tres respuestas apoyan o justifican el papel central que ejerce la disbiosis en la fisiopatología del SII, de hecho, hasta un 15% de las infecciones gastrointestinales acaba desarrollando posteriormente en SII post-infeccioso (50).

En resumen, las alteraciones cualitativas y cuantitativas de la microbiota intestinal de los pacientes con SII generan una alteración de la comunicación bidireccional del eje intestino-cerebro que tiende a perpetuar los síntomas del SII por la alteración de los sistemas endocrino, inmune y nervioso.

Los estudios realizados hasta la fecha se han caracterizado por presentar una elevada heterogeneidad y no han permitido distinguir de manera consistente entre microbiotas de enfermos de SII versus microbiotas de controles sanos, más allá de constatar una disminución de la alfa diversidad en el grupo de enfermos con SII (99,119) y un aumento del cociente Bacillota/Bacteroidota en este mismo grupo (99,132). Existen factores que han contribuido a la alta heterogeneidad de los resultados, como por ejemplo el hecho de no haber empleado ni las mismas técnicas moleculares de análisis de la microbiota ni siquiera los mismos reactivos. Tampoco se utilizaron las mismas bases de datos comparativas ni unas poblaciones de control adecuadas.

Nuestro trabajo ha consistido en un estudio descriptivo de la microbiota intestinal de un grupo de 25 pacientes con síndrome del intestino irritable, comparándola con la microbiota de 110 voluntarios sanos, seleccionados todos, dentro de una misma área geográfica, compartiendo base genética, estilo de vida y características socioculturales similares, pensando que dado que el IMC era parecido compartirían también hábitos dietéticos, por lo menos en su mayor parte, ya que la dieta mediterránea cardiosaludable es la mayoritaria en el área de selección de todos los participantes.

La identificación de patrones microbianos específicos podría ofrecer nuevos conocimientos sobre el diagnóstico y tratamiento del SII. Los enfoques personalizados para el tratamiento del SII pueden abrir nuevas vías de investigación.

Seleccionar pacientes y controles sanos dentro de una misma población que comparte hábitos sociales, estilo de vida y dieta mediterránea puede ayudar a minimizar variabilidades genéticas, dietéticas y/o ambientales lo que se consideraría una fortaleza de nuestro estudio. De esta manera las diferencias en la firma microbiótica serán más atribuibles a la enfermedad y así podremos detectar posibles biomarcadores de la misma para poder además desarrollar tratamientos específicos frente a la misma, que deberán ser personalizados.

III – OBJETIVOS

III - OBJETIVOS

Objetivo Principal:

- Analizar y comparar la composición, estructura y diversidad de la microbiota intestinal en pacientes con SII y en controles sanos, con el fin de identificar patrones microbianos diferenciales asociados a la enfermedad.

Objetivos Específicos:

- Describir y evaluar las diferencias en los índices de diversidad alfa y riqueza de la microbiota intestinal entre pacientes con SII y un grupo de controles sanos.
- Explorar y representar visualmente las disimilitudes globales en la composición de la microbiota intestinal entre pacientes con SII y controles sanos, mediante PCoA (*Principal Coordinates Analysis*) utilizando la distancia Bray-Curtis como métrica de disimilitud.
- Evaluar estadísticamente las diferencias en la composición global de la microbiota intestinal entre pacientes con SII y controles sanos mediante el test PERMANOVA (*Permutational Multivariate Analysis of Variance*) aplicando diversas métricas de disimilitud.
- Describir y evaluar las diferencias taxonómicas a nivel de filo, familia y género entre la microbiota intestinal de pacientes con SII y un grupo de controles sanos, mediante métodos gráficos exploratorios.
- Identificar los géneros bacterianos más relevantes y estadísticamente asociados a pacientes con SII en comparación con controles sanos, mediante análisis de expresión diferencial utilizando LEfSe (*Linear Discriminant Analysis Effect Size*) y el método de aprendizaje automático *Random Forest*.
- Evaluar las posibles correlaciones e identificar asociaciones entre las familias de bacterias que componen la microbiota intestinal de pacientes con SII y un grupo de controles sanos, mediante la aplicación del algoritmo SparCC (*Sparse Correlations for Compositional Data*).

IV - MATERIAL Y MÉTODOS

IV - MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. DISEÑO DEL ESTUDIO Y POBLACIÓN

Estudio observacional y analítico donde se compara la microbiota intestinal de un grupo de casos de síndrome de intestino irritable respecto a un grupo control. La microbiota intestinal fue analizada a partir de muestras de heces recogidas de participantes de dos ensayos clínicos finalizados (estudios no publicados) realizados entre 2022 y 2023. Todos los participantes fueron reclutados en las instalaciones del grupo de investigación MiBioPath de la Universidad Católica de Murcia (UCAM), España. Las características de los participantes serán recogidas en una tabla donde las variables continuas se expresarán como media y desviación estándar (DE), y las variables categóricas como N (%).

4.1.1. Ensayo clínico con pacientes de síndrome del intestino irritable

El estudio con pacientes de SII fue autorizado por el Comité de Ética del Hospital del Vinalopó con fecha de autorización 29/06/2022 y fue posteriormente aprobado por el Comité de Ética de la UCAM, con fecha de aprobación 28/04/2023 y código de aprobación: CEC042306. El número total de participantes en este ensayo clínico ascendió a 25 pacientes.

4.1.1.1. *Criterios de inclusión en el ensayo con pacientes de síndrome del intestino irritable:*

Los criterios de inclusión para los pacientes de SII fueron:

1. Edad entre 18-65 años.
2. Firma de consentimiento informado por parte del paciente.
3. Pacientes con Síndrome de Intestino Irritable diagnosticado por los criterios de Roma IV.

4.1.1.2. *Criterios de exclusión en el ensayo con pacientes de síndrome del intestino irritable:*

En este estudio, se excluyó a:

1. Pacientes que usaron antibióticos hasta dos semanas antes del comienzo del estudio.
2. Pacientes que hayan tomado otros probióticos en los dos meses previos.
3. Pacientes con otras enfermedades inflamatorias del intestino.
4. Pacientes embarazadas, en periodo de lactancia o que no se comprometan a utilizar un método anticonceptivo eficaz durante el desarrollo del estudio.

Los pacientes con SII fueron caracterizados en función del subtipo de SII que padecían (SII-D, SII-E, SII-M) (1) y la severidad de la dolencia en función del índice IBS-SSS (133).

4.1.2. Ensayo clínico con controles sanos

El estudio de controles sanos fue aprobado por el Comité de Ética de la UCAM, con fecha de aprobación 29/04/2022 y código de aprobación: CEC042202. El número total de controles sano que participó en este ensayo clínico fue de 110 voluntarios.

4.1.2.1. Criterios de inclusión en el ensayo con controles sanos:

1. Deportistas sanos entrenados, entre 18 y 65 años, que practiquen ejercicio aeróbico de alta intensidad entre 3 y 5 veces a la semana.
2. Firma del consentimiento informado.
3. Compromiso en cuanto a cumplimiento en la recogida de datos previos al inicio del estudio, de instrucciones de hidratación previa a las sesiones de ejercicio controlado y forma de uso del producto.

4.1.2.2. Criterios de exclusión en el ensayo con controles sanos:

Los criterios de exclusión para la selección de los controles sanos incluyeron:

1. Enfermedad crónica que a criterio del investigador contraindique participación en el estudio.

2. Índice de Masa Corporal superior a 30.
3. Enfermedad aguda en los últimos 3 meses que haya precisado tratamiento con esteroides.
4. Tratamiento médico o suplemento nutricional que a criterio del investigador pueda interferir en los parámetros a estudio.
5. Consumo de drogas o alcoholismo leve (consumo diario >20 g de alcohol en mujeres y > 40 g en hombres).
6. Consumo de antibióticos y/o probióticos en los últimos 15 días.
7. Enfermedades alérgicas graves.
8. Imposibilidad de comunicarse con el investigador.
9. Embarazo o lactancia.

4.2. RECOGIDA DE LAS MUESTRAS DE HECES

Todas las muestras de heces se recogieron al inicio de cada uno de los dos ensayos clínicos. Para ello se utilizó un recipiente adecuado que contenía una solución estabilizadora de ácidos nucleicos, como RNAlater (Thermo Fisher Scientific) y luego se almacenaron a -20 °C hasta su procesamiento.

4.3. PERFIL DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

La metodología empleada para determinar la composición de la microbiota intestinal se basa en la amplificación del gen que codifica la subunidad 16S del ribosoma bacteriano, su posterior secuenciación masiva y la asignación taxonómica de las secuencias obtenidas.

El gen bacteriano *16S rRNA* presenta una estructura muy conservada (130). Se utiliza de forma universal en la identificación taxonómica puesto que presenta regiones variables (fundamentalmente V3 y V4) que han acumulado cambios genéticos que nos permite diferenciar bacterias filogenéticamente próximas.

Para estudiar la caracterización filogenética de la microbiota intestinal, se extrajo ADN bacteriano de las muestras de heces utilizando el kit QIAamp PowerFecal Pro DNA (Qiagen). La concentración de ADN se midió con el fluorímetro Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific) y la pureza se evaluó utilizando un

espectrofotómetro NanoDrop (Thermo Fisher Scientific). Posteriormente, se realizó la amplificación mediante la técnica de PCR, (*Polymerase Chain Reaction*) y la secuenciación de alto rendimiento de las regiones variables V3 y V4 del gen 16S *rRNA* bacteriano siguiendo el protocolo de preparación de la biblioteca de secuenciación "16S *Metagenomic Sequencing Library Preparation*" (Illumina). Básicamente, este protocolo estandarizado y ampliamente reconocido para el estudio de la microbiota incluye los siguientes pasos:

- Preparación de librerías de amplicones: Amplificación mediante PCR de las regiones V3 y V4 del gen 16S *rRNA* mediante cebadores o "*primers*" específicos.
- Adición de adaptadores de secuenciación de Illumina previa a la secuenciación, mediante *Nextera XT DNA Library Preparation Kit* (Illumina).
- Secuenciación de las librerías de amplicones: Las librerías se normalizan-agrupan, y se secuencian en el sistema MiSeq (Illumina). Tras la secuenciación se obtiene el fichero FASTQ con las secuencias crudas.

En la figura 27 se detalla el esquema de trabajo seguido y el procesamiento de datos y resultados.

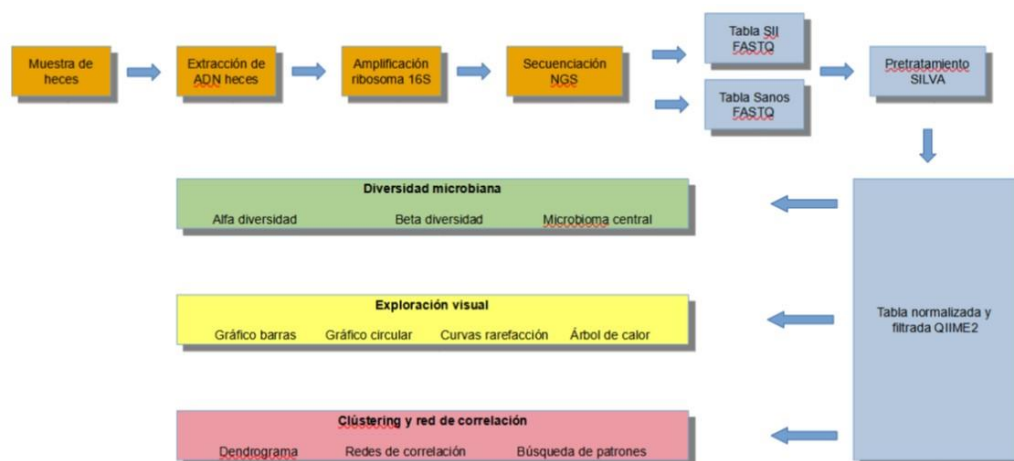


Figura 27. Esquema de trabajo y procesamiento de datos y resultados.

4.4. PROCESAMIENTO DE LOS DATOS DE LA SECUENCIA DEL 16S RARN

Es importante destacar que los datos iniciales de la microbiota intestinal de los pacientes con SII y los controles sanos se proporcionaron en diferentes formatos. Básicamente, los datos de los pacientes con SII y los controles sanos se prepararon utilizando los mismos métodos; sin embargo, la base de datos de referencia para la asignación taxonómica difería entre los dos grupos. Por lo tanto, estos datos tuvieron que pasar por una serie de procesos para garantizar la comparabilidad entre ambos conjuntos de participantes.

Los datos de la microbiota intestinal de 110 controles sanos estaban disponibles en formato FASTQ como secuencias sin procesar (7 muestras fueron finalmente rechazadas después del procesamiento de los datos). Primero, se evaluó la calidad del archivo FASTQ utilizando el software FastQC (versión 0.12.0). Las lecturas con una puntuación de calidad Phred inferior a 20 se consideraron inadecuadas para un análisis posterior. En este punto, la calidad general de las secuencias obtenidas se consideró satisfactoria y no fue necesario recortarlas previamente. Los datos brutos se importaron luego al software QIIME2 (134) para procesar el flujo de trabajo que condujo a la asignación taxonómica final de las secuencias. En primer lugar, se utilizó el algoritmo integrado DADA2 (135) para la eliminación de ruido. La calidad de la secuenciación disminuyó significativamente después de 230 pares de bases (pb), por lo que se truncaron los últimos 70 pb para mejorar la calidad general de las lecturas. A continuación, se aplicó un algoritmo de “clustering” para agrupar secuencias similares en OTU (*Operational Taxonomic Units*) con un umbral de similitud del 97%. Posteriormente, se asignó la clasificación taxonómica a las OTU según la base de datos SILVA (versión 138.1) (136) utilizando un clasificador Naive Bayes de la herramienta de software Scikit-learn. Finalmente, se obtuvo una tabla con el número de secuencias asignadas (y su equivalencia a abundancias relativas) a los diferentes niveles taxonómicos, para cada muestra del grupo de controles sanos. En este momento, los datos de la microbiota intestinal de los controles sanos estaban disponibles para ser evaluados y comparados con los de los pacientes con SII utilizando la plataforma web MicrobiomeAnalyst (versión 2.0) (137).

Los datos de la microbiota intestinal de los 25 pacientes con SII se proporcionaron directamente en forma de tabla con las secuencias asignadas a

diferentes taxones. Dado que se detectó que la asignación taxonómica se realizó utilizando una base de datos diferente a la versión SILVA empleada para las muestras de control sanos, fue necesario un paso preliminar de adaptación de los datos. Los datos de la microbiota intestinal de los pacientes con SII estaban entonces disponibles para su importación y posterior análisis con MicrobiomeAnalyst.

Una vez que los datos de los controles sanos y los pacientes con SII se importaron a MicrobiomeAnalyst, se realizó un paso de filtrado inicial para eliminar las OTU con recuentos menores de 4 lecturas o aquellas encontradas en menos del 10% de las muestras. Además, también se excluyeron las OTU que presentaban una variabilidad inferior al 5%. La figura 28 muestra que las muestras de pacientes con SII tenían una cantidad de lecturas notablemente mayor en comparación con las muestras de controles sanos. En consecuencia, se implementó un paso de normalización en MicrobiomeAnalyst para ajustar los distintos tamaños de biblioteca de las muestras. Se utilizó un enfoque de transformación de datos para la normalización, empleando específicamente TMM (*trimmed mean of M-values*).

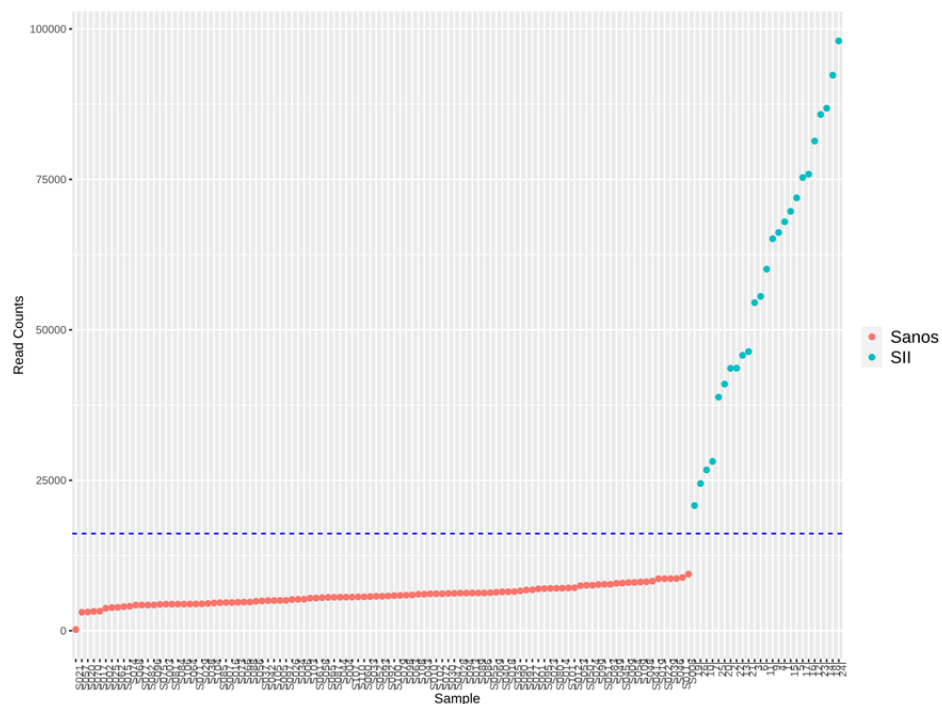


Figura 28. Recuento de lecturas por muestra.

A partir de este momento, se realizó un análisis comparativo y descriptivo exhaustivo de estos datos seleccionados de la microbiota intestinal de pacientes con SII y controles sanos utilizando varias herramientas estadísticas y métodos gráficos disponibles en la plataforma MicrobiomeAnalyst.2.4

4.5. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

4.5.1. Análisis de diversidad alfa

La diversidad alfa a nivel taxonómico de género se evaluó utilizando los índices de Shannon, Simpson y Chao1. Se aplicó la prueba t para evaluar la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio con respecto a estos índices.

4.5.2. Análisis de diversidad beta

La evaluación de la diversidad beta se representó gráficamente mediante PCoA, basado en la distancia de Bray-Curtis como métrica de disimilitud. Además, se examinaron las diferencias estadísticamente significativas en las distancias de Bray-Curtis, Jaccard y Jensen-Shannon entre los grupos de estudio a través del método PERMANOVA. Se construyó un dendrograma utilizando la distancia de Bray-Curtis y aplicando el algoritmo de Ward para clasificar las muestras de ambos grupos de estudio y resaltar las posibles similitudes compositivas.

4.5.3. Descripción de la microbiota intestinal de pacientes con síndrome del intestino irritable y controles sanos y métodos exploratorios visuales

Para explorar y comparar visualmente la composición de la microbiota intestinal entre pacientes con SII y controles sanos, se generaron gráficos de barras de distribuciones de abundancia relativa a nivel de filo, familia y género. Además, también se visualizó la comparación de abundancias relativas a nivel de familia entre grupos utilizando un árbol de calor, resaltando solo los taxones con un valor $p < 0,05$ después de aplicar la prueba de Wilcoxon. Este análisis exploratorio se realizó utilizando el paquete Metacoder (138). Se trata de un árbol de calor de

diferencias taxonómicas. Cuando se analiza el gráfico, el gradiente de color, el tamaño de los nodos, el grosor de las juntas entre los nodos y las etiquetas se basan en la relación $\log_2$ de la abundancia media. Además, para investigar la microbiota central, se identificaron e ilustraron géneros con una abundancia relativa de 0,01 % o más, presentes de manera constante en al menos el 20 % de las muestras en todos los grupos.

4.5.4. Análisis de taxones microbianos expresados diferencialmente

Se empleó la herramienta LefSe para detectar taxones con abundancias diferenciales (139). LefSe combina pruebas de significación estadística, como Kruskal-Wallis, con evaluaciones de significación biológica como LDA (*Linear Discriminant Analysis*), para determinar qué taxones son más indicativos de las diferencias entre los grupos de estudio. Los parámetros de referencia utilizados para identificar un género como biomarcador estadísticamente significativo fueron un valor p ajustado $<0,05$ y una puntuación LDA ≥ 2 . Además, también se aplicó el algoritmo de aprendizaje automático Random Forest para identificar géneros bacterianos que distinguen entre dos conjuntos de datos. Este algoritmo permite la identificación de las características más importantes, que luego se utilizan para clasificar diferentes conjuntos de datos y pueden servir como posibles biomarcadores. La "*Mean Decrease Accuracy*" es una métrica utilizada en los modelos de Random Forest para evaluar la importancia de diferentes taxones en las predicciones del modelo. Cuanto mayor sea el valor positivo, más crucial será la característica para el modelo.

4.5.5. Análisis de redes de correlación

Se utilizó el algoritmo SparCC para inferir correlaciones entre familias bacterianas tanto en pacientes con SII como en controles sanos, utilizando un flujo de trabajo que incorporaba el pipeline iNAP (140). La representación y el análisis de estas redes de correlación ecológica se realizaron utilizando el software

Cytoscape (141) con la herramienta Cytohubba (142) empleada para identificar la posición e interacciones de los diferentes nodos. En estas representaciones gráficas, las conexiones azules indican correlaciones positivas, mientras que las conexiones rojas significan correlaciones negativas. El ancho de las líneas de conexión representa la fuerza de la correlación: las líneas más anchas indican una correlación más fuerte entre los nodos, ya sea positiva o negativa.

En este contexto, se utilizaron los algoritmos de análisis topológico Degree y MCC (*Maximal Clique Covers*) para identificar los nodos más importantes en función del número de interacciones. Aquellos nodos compartidos por ambos algoritmos se consideraron como nodos “*hub*” o de concentración. Las correlaciones consideradas significativas por el algoritmo SparCC e ilustradas en una figura deben tener un valor $p < 0,1$ y una magnitud de correlación de $\pm 0,3$.

V – RESULTADOS

V - RESULTADOS

5.1 DATOS CLÍNICOS Y DEMOGRÁFICOS DE LOS PARTICIPANTES

Las tablas 1 y 2 resumen las características clínicas y demográficas de los 25 pacientes con SII y de los 110 controles sanos incluidos en los estudios. En contraste con el grupo de controles sanos, que tenía una proporción de sexos casi equilibrada con un número aproximadamente igual de hombres y mujeres, el grupo de pacientes con SII estaba compuesto en gran medida por mujeres. Los pacientes con SII fueron diagnosticados principalmente con el subtipo SII-D y exhibieron una sintomatología de moderada a grave.

	Pacientes SII	Controles Sanos
Sexo (♀)	84,6%	48,2%
Edad (años)	43 (12)	37 (12)
Peso (Kg)	64 (12)	72 (13)
Altura (cm)	166 (6)	171 (9)
IMC (kg/m²)	23,6 (3,6)	24,4 (2,9)

Tabla 1 Características basales de todos los participantes.

Subtipo SII	
SII-D	57,7%
SII-E	23,0%
SII-M	19,3%
Categoría IBS-SSS	
Severo	69,2%
Moderado	27,0%
Leve	19,3%

Tabla 2 Categorización clínica de los pacientes con SII.

5.2 ALFA DIVERSIDAD DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN PACIENTES CON SII

El análisis del estimador Chao1 (figura 29-C) reveló que la microbiota intestinal de los pacientes con SII muestra una mayor riqueza en comparación con los controles sanos, un hallazgo que también se reflejó en el análisis de las curvas de rarefacción (figura 30).

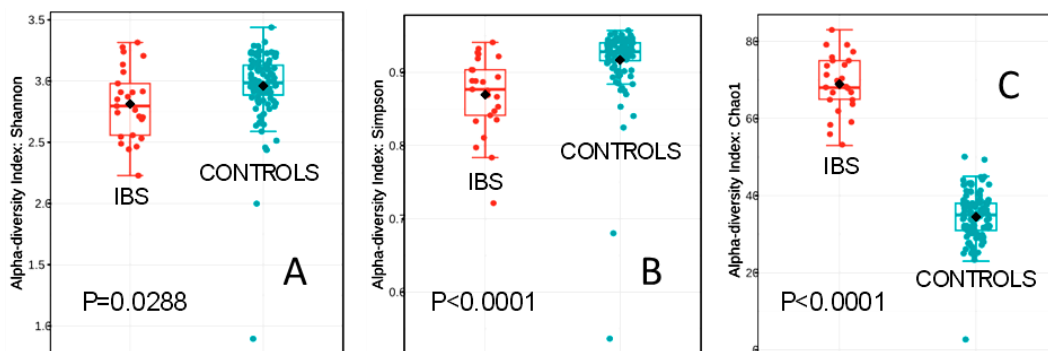


Figura 29. Diagramas de cajas de la distribución de los índices de alfa diversidad y riqueza.

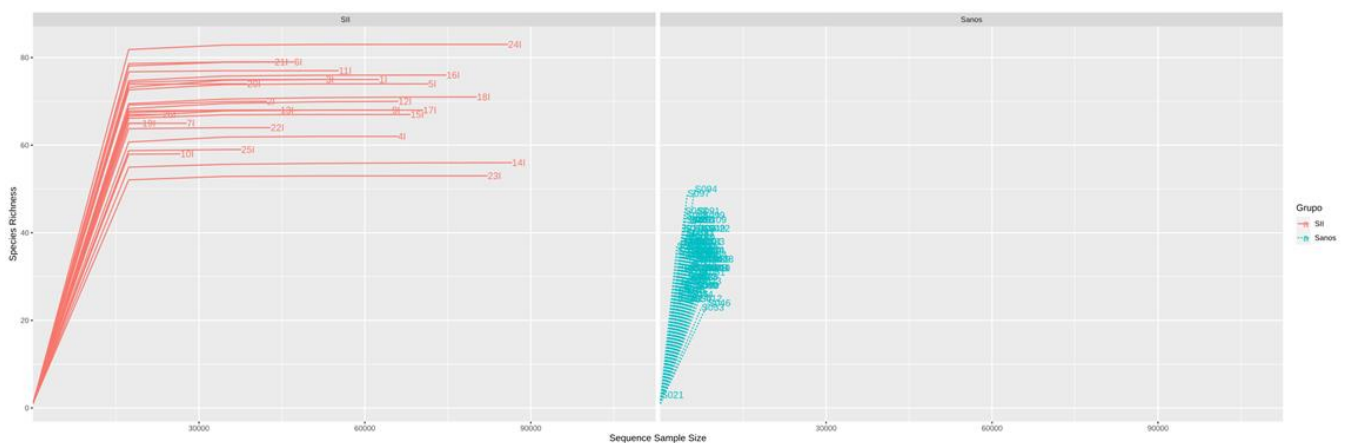


Figura 30. Curvas de rarefacción. Grupo control vs grupo SII.

Sin embargo, se observó una disminución en los índices de Shannon y Simpson (figura 29-A y 29-B) en pacientes con SII en comparación con controles sanos. Estos resultados indican que, si bien la microbiota intestinal de los pacientes con SII es más rica, está menos distribuida y equilibrada que la de los controles sanos.

5.3 DIFERENCIAS EN LA AGRUPACIÓN DE COMUNIDADES MICROBIANAS ENTRE PACIENTES CON SII Y CONTROLES SANOS

En el gráfico PCoA (figura 31) se observó una diferencia significativa en la agrupación de la comunidad microbiana entre muestras de heces de pacientes con SII y controles sanos mediante. Este análisis reveló distintos patrones de agrupación, lo que indica diferencias sustanciales en la composición de la microbiota intestinal entre ambos grupos de estudio. La Tabla 3 resume las diferencias estadísticamente significativas detectadas en las distancias de Bray-Curtis, Jaccard y Jensen-Shannon entre los grupos de estudio, según lo determinado por el método PERMANOVA.

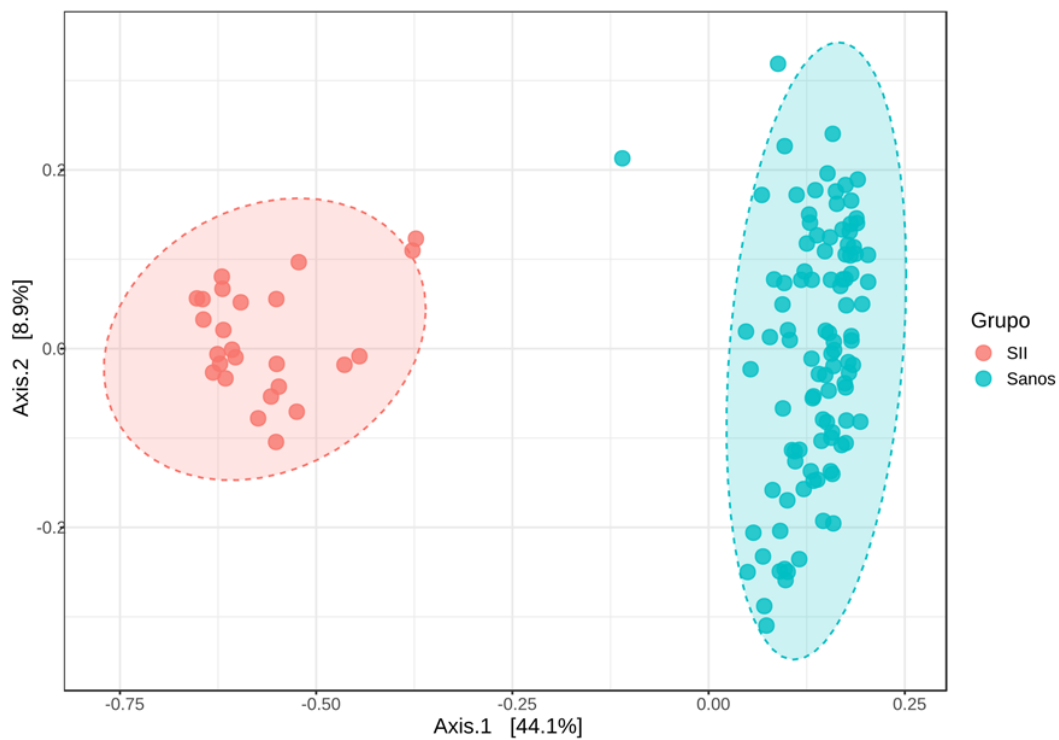


Figura 31. PCoA basado en la distancia de Bray-Curtis.

Además, un dendrograma construido utilizando corroboró la clasificación de las muestras según el estado de salud de los participantes, distinguiendo entre individuos sanos y afectados por SII (figura 32).

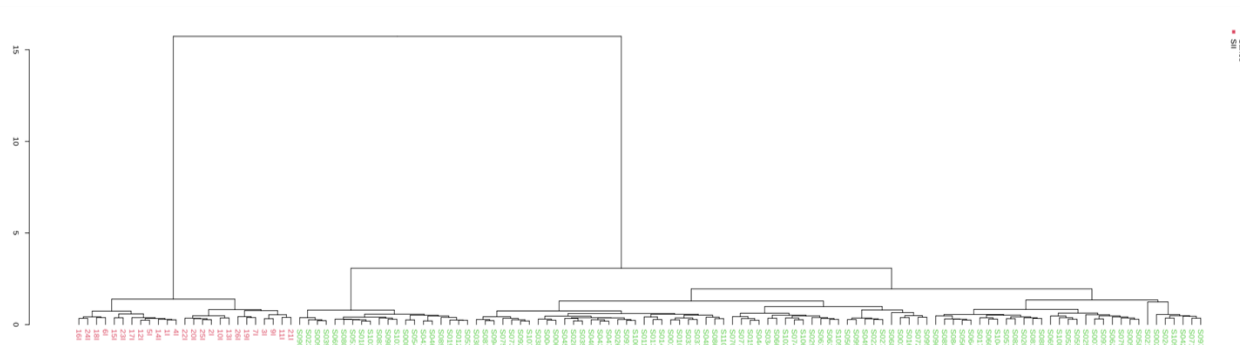


Figura 32. Dendrograma.

DISTANCIA MÉTRICA	PERMANOVA		
	Valor-F	R ²	Valor-P
Bray-Curtis	46.052	0.26766	0.001
Jaccard	28.423	0.18406	0.001
Jansen-Shannon	93.857	0.4269	0.001

Tabla 3 Comparaciones de varias métricas de distancia de diversidad beta utilizando la prueba PERMANOVA.

5.4 DIFERENCIAS DE COMPOSICIÓN A NIVEL DE FILO, FAMILIA Y GÉNERO ENTRE PACIENTES CON SII Y CONTROLES SANOS EVIDENCIADOS MEDIANTE MÉTODOS EXPLORATORIOS VISUALES

A nivel de filo es particularmente destacable, una inversión de la relación Bacillota/ Bacteroidota (en pacientes con SII en comparación con los controles, con una disminución de Bacillota y un incremento de Bacteroidota (figura 33). La reducción de Bacillota en pacientes con SII se debió principalmente al agotamiento de Lachnospiraceae, con contribuciones menores de disminuciones en las familias Ruminococcaceae y Christensenellaceae. El aumento de Bacteroidota se debió principalmente a una expansión de la familia Bacteroidaceae (figura 34). A nivel de

género, esto conduce a una fuerte presencia de *Bacteroides* y marcadas reducciones en los géneros *Agathobacter*, *Subdoligranulum* y *Christensenellaceae* R7 (figura 35).

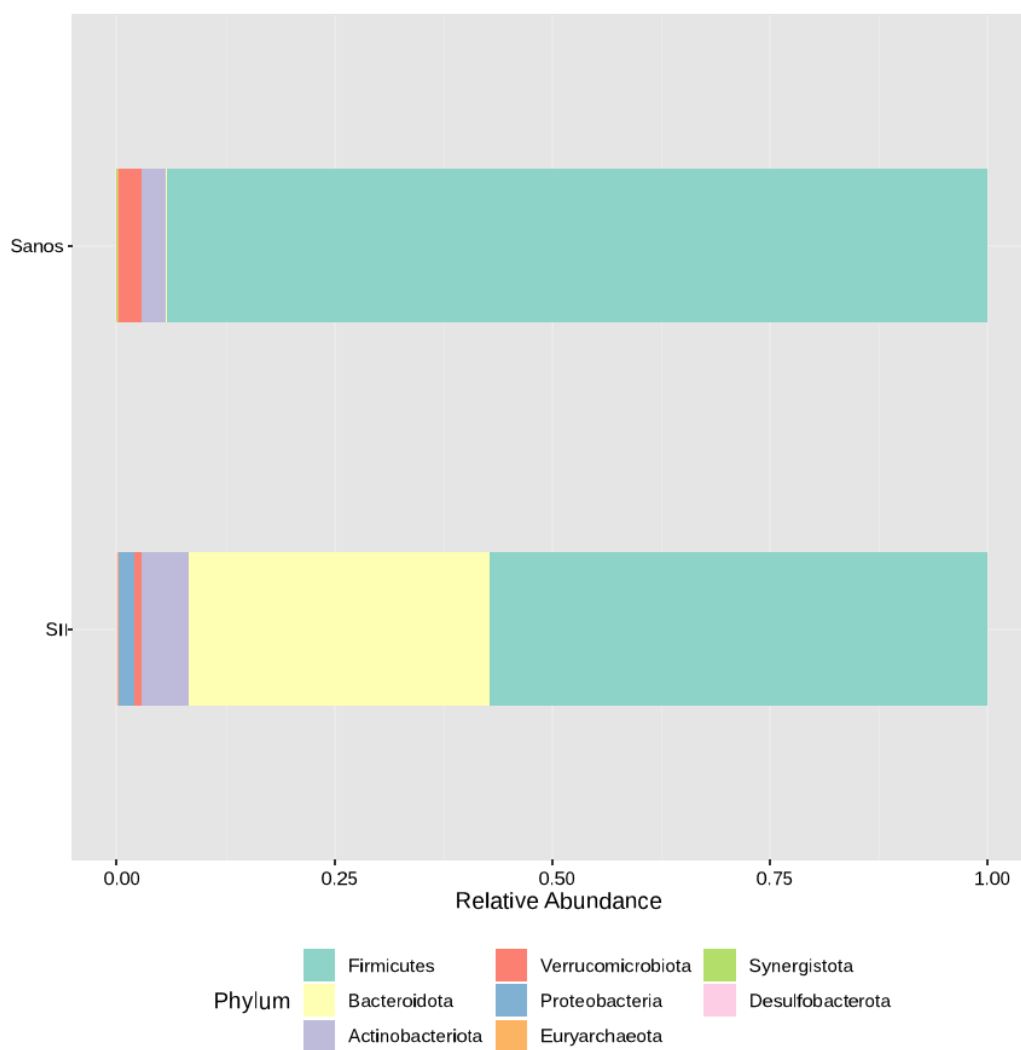


Figura 33. Diagrama de barras de abundancias relativas a nivel de filo.

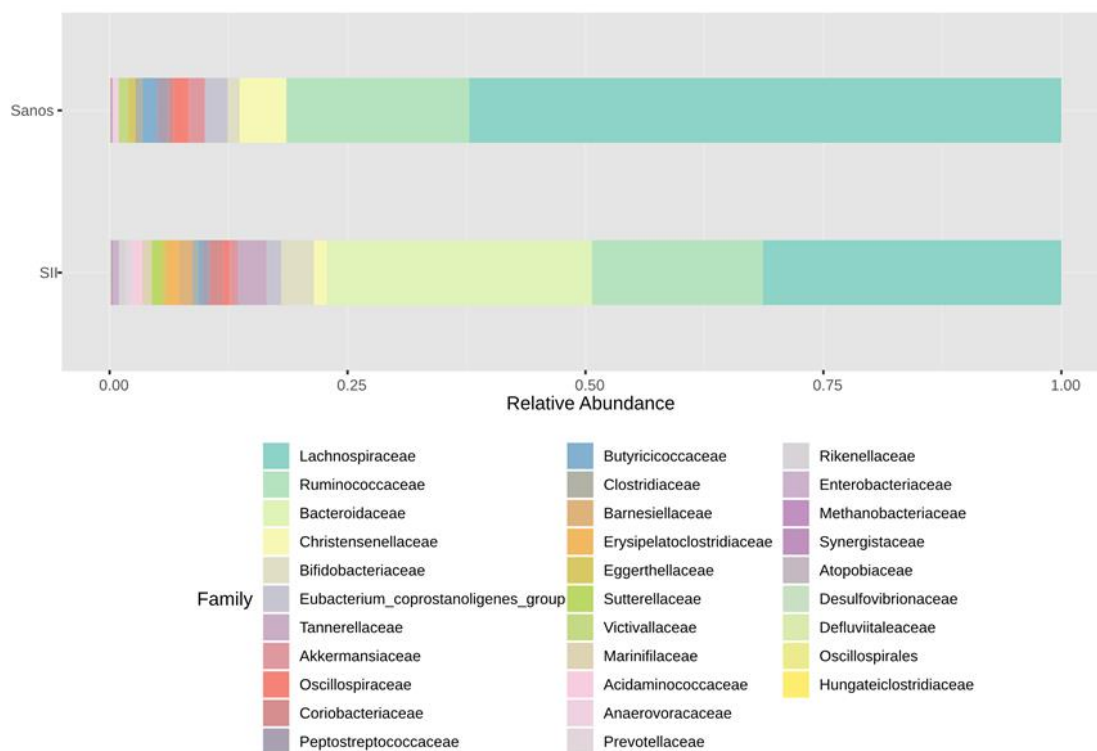


Figura 34. Diagrama de barras de abundancias relativas a nivel de familia.

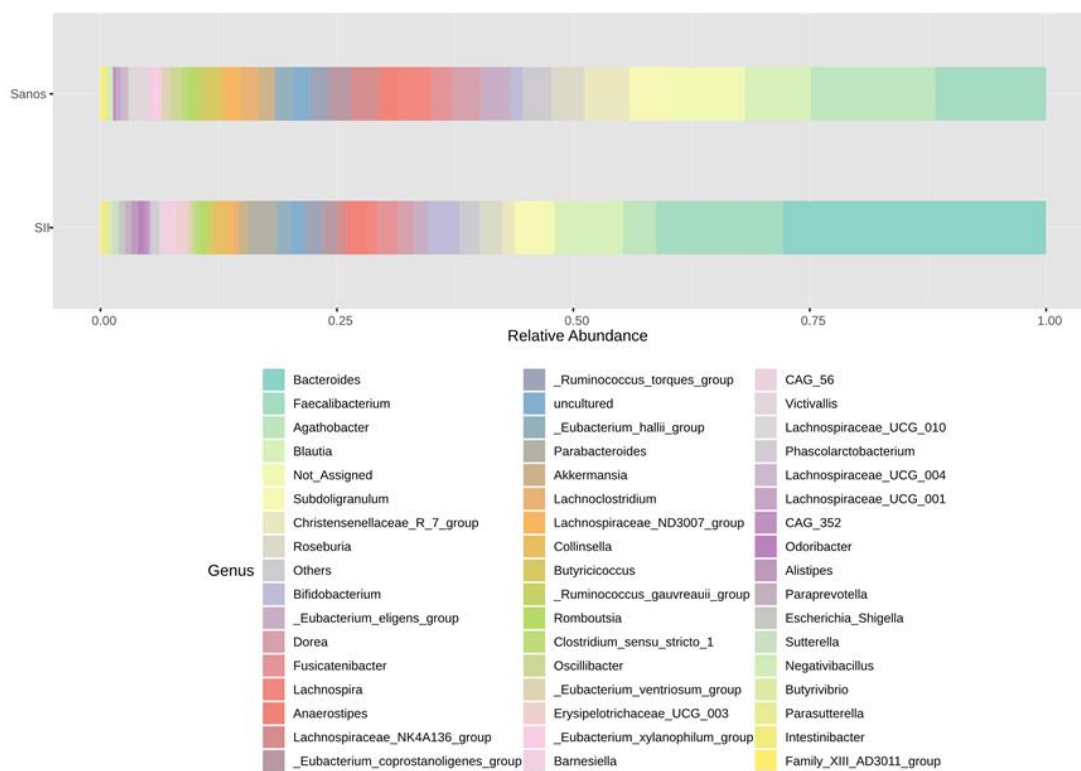


Figura 35. Diagrama de barras de abundancias relativas a nivel de género.

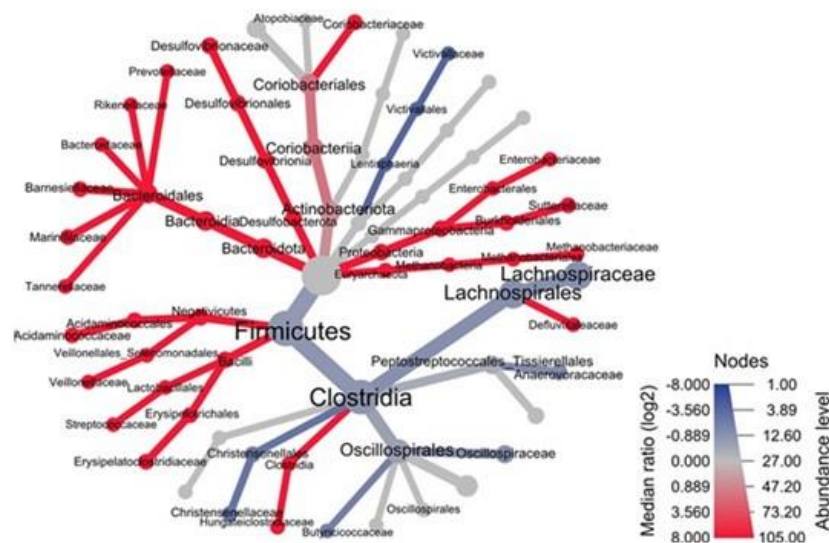


Figura 36. Árbol de calor a nivel de familia.

Un examen del árbol de calor amplió los conocimientos proporcionados por los diagramas de barras anteriores, descubriendo varias diferencias significativas en la microbiota intestinal de los pacientes con SII en comparación con los controles sanos (figura 36). Encontramos una disminución notable en la abundancia relativa de Bacillota que afectó principalmente a la clase Clostridia y a la mayoría de sus familias constituyentes. Sin embargo, se observaron incrementos en las clases Bacilli y Negativicutes. Además, el filo Bacteroidota mostró un aumento, principalmente a expensas de las familias dentro del orden Bacteroidales. Los filos menos abundantes, como Desulfobacterota, Pseudomonadota y Euryarchaeota, también mostraron aumentos. El análisis del árbol de calor también destacó una disminución pronunciada en la familia Victivallaceae (filo Lentisphaerota).

Los gráficos obtenidos del análisis del microbioma central (figura 37) mostraron que, en pacientes con SII, *Bacteroides* es el género central, un patrón que no se observa en los controles sanos. Por el contrario, en pacientes con SII, *Agathobacter*, *Christensenellaceae* grupo R7 y *Lachnospira* pierden prominencia como géneros principales, mientras que *Parabacteroides* emerge como un género clave. A pesar de estos cambios, el filo Bacillota todavía constituye una parte significativa del microbioma central en pacientes con SII.

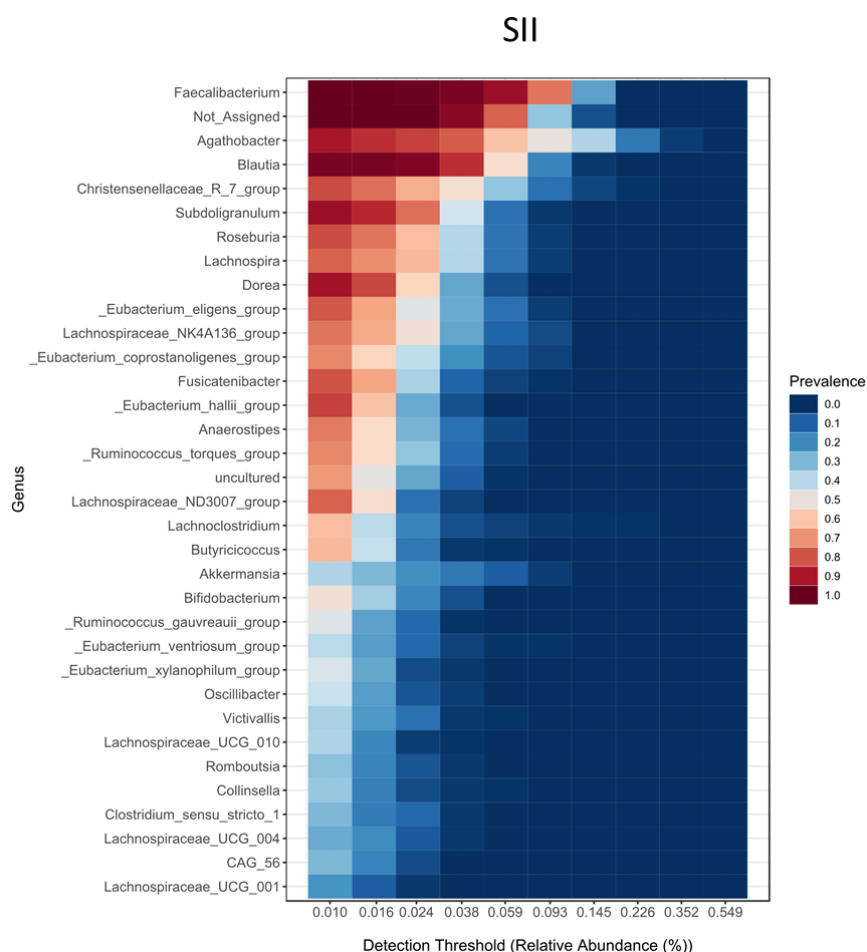


Figura 37. Análisis del microbioma central para el grupo de pacientes con SII.

En los controles sanos (figura 38), el microbioma central está compuesto predominantemente por géneros del filo Bacillota, incluido *Faecalibacterium* (que es el segundo género más importante en pacientes con SII), *Agathobacter*, *Blautia*, *Christensenellaceae* grupo R7, *Subdoligranulum*, *Roseburia*, *Lachnospira* y *Dorea*.

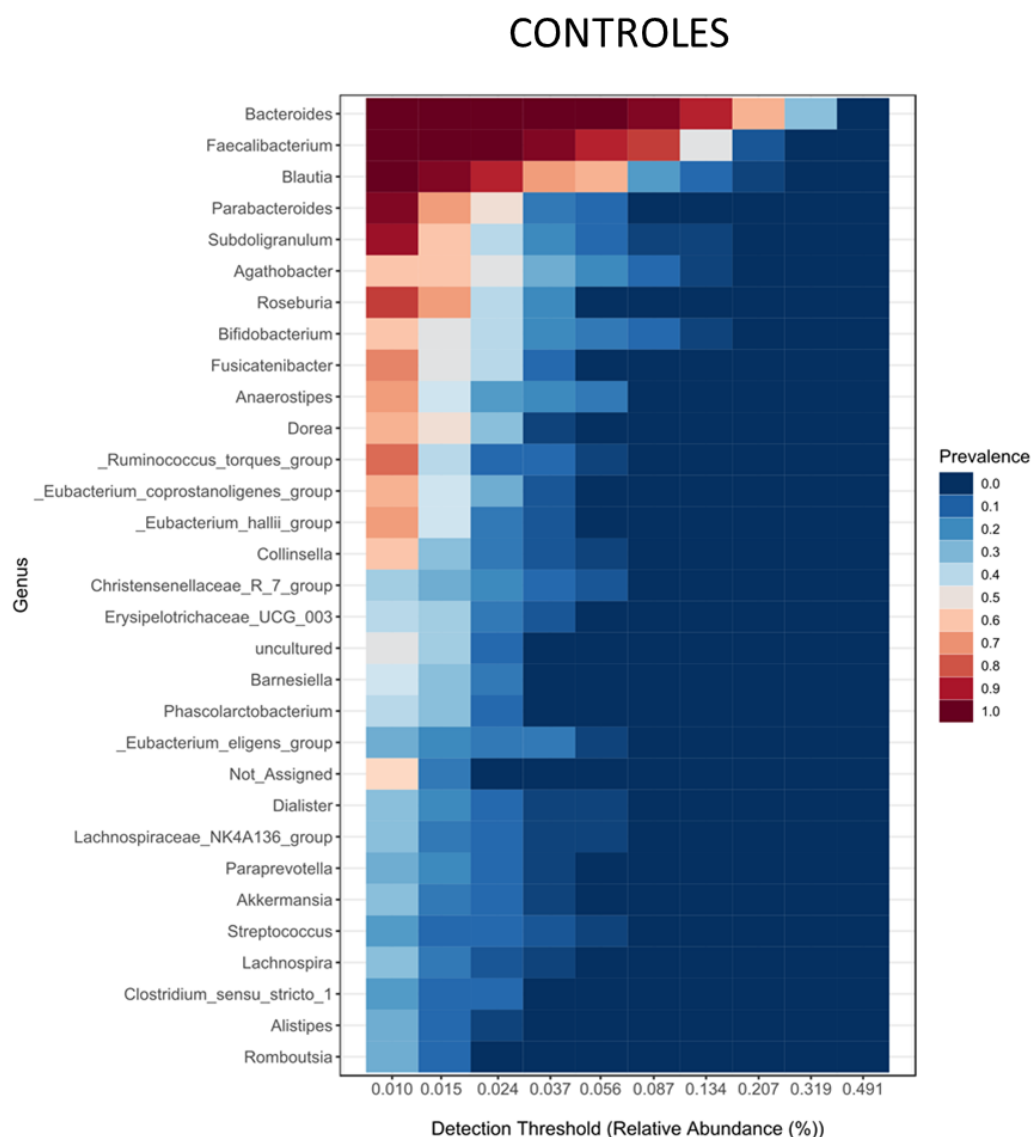


Figura 38. Análisis del microbioma central para el grupo de controles.

5.5 GÉNEROS CON EXPRESIÓN DIFERENCIAL IDENTIFICADOS EN PACIENTES CON SII COMO BIOMARCADORES POTENCIALES

La figura 39 presenta los géneros determinados por LEfSe expresados diferencialmente en pacientes con SII con puntuación LDA >2. Los géneros con puntuación LDA >3 que explican de manera más significativa las diferencias en la microbiota intestinal entre pacientes con SII y controles sanos incluyen *Bacteroides*, *Faecalibacterium* y *Blautia*. Géneros adicionales con puntuaciones LDA que oscilan entre 2 y 3 son *Bifidobacterium*, *Parabacteroides*, *Subdoligranulum*, *Anaerostipes*, *Agathobacter* y otros.

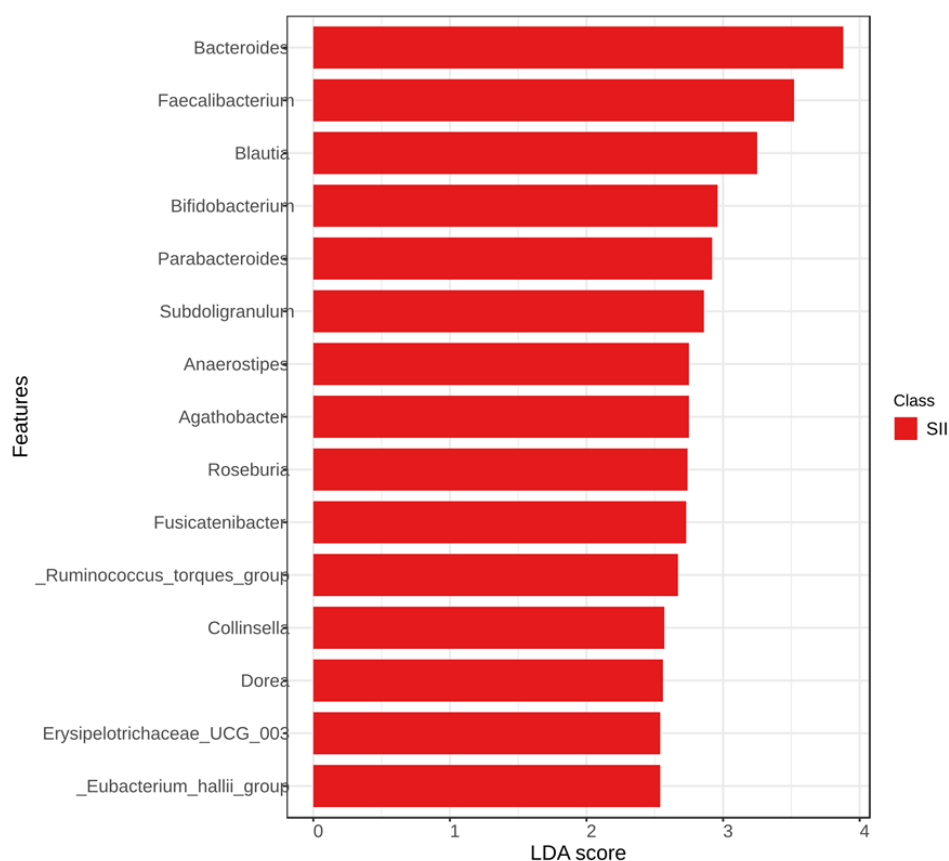


Figura 39. Géneros identificados como biomarcadores por LEfSe.

Además, la figura 40 destaca los géneros identificados por el algoritmo Random Forest que son particularmente característicos de los pacientes con SII.

Según este modelo, los géneros que contribuyeron más significativamente a la clasificación de muestras como pertenecientes a pacientes con SII, en orden de importancia descendente, fueron *Bacteroides*, *Alistipes*, *Faecalibacterium*, *Odoribacter*, *Parabacteroides* y *Streptococcus*. De este modo, *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Parabacteroides*, *Subdoligranulum*, *Ruminococcus torques group*, *Erysipelotrichaceae UGC 003* y *Eubacterium halii* fueron los géneros identificados tanto por LEfSe como por Random Forest como característicos y expresados diferencialmente por los pacientes con SII.

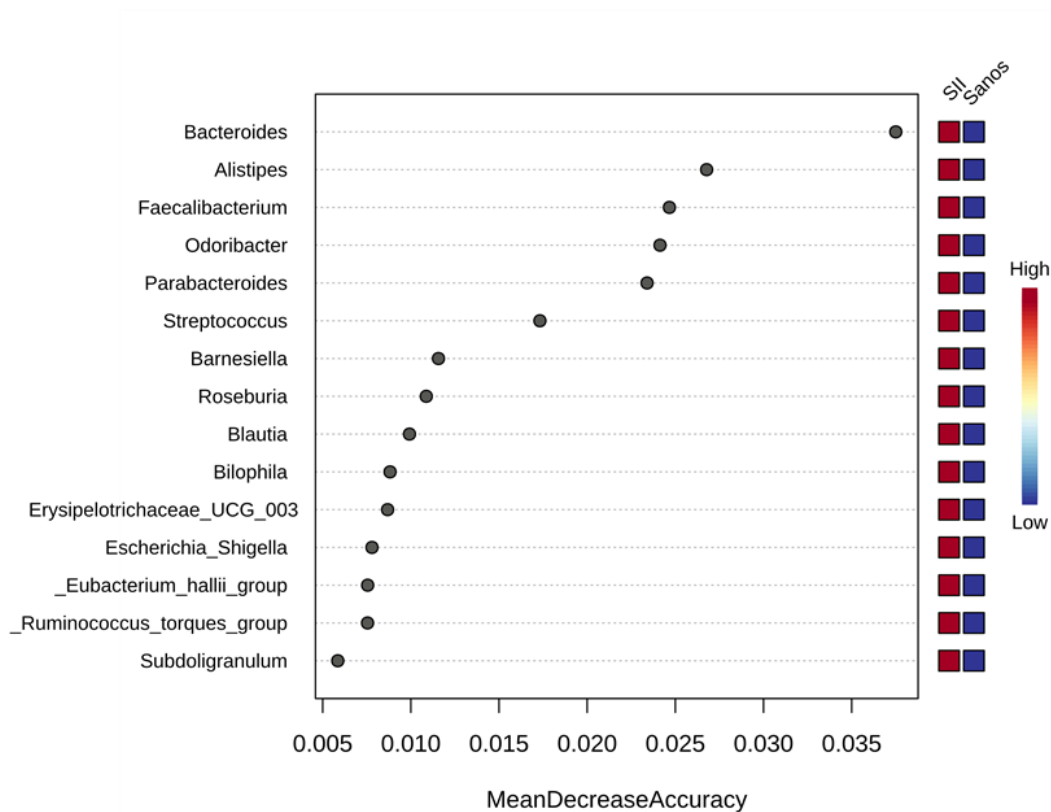
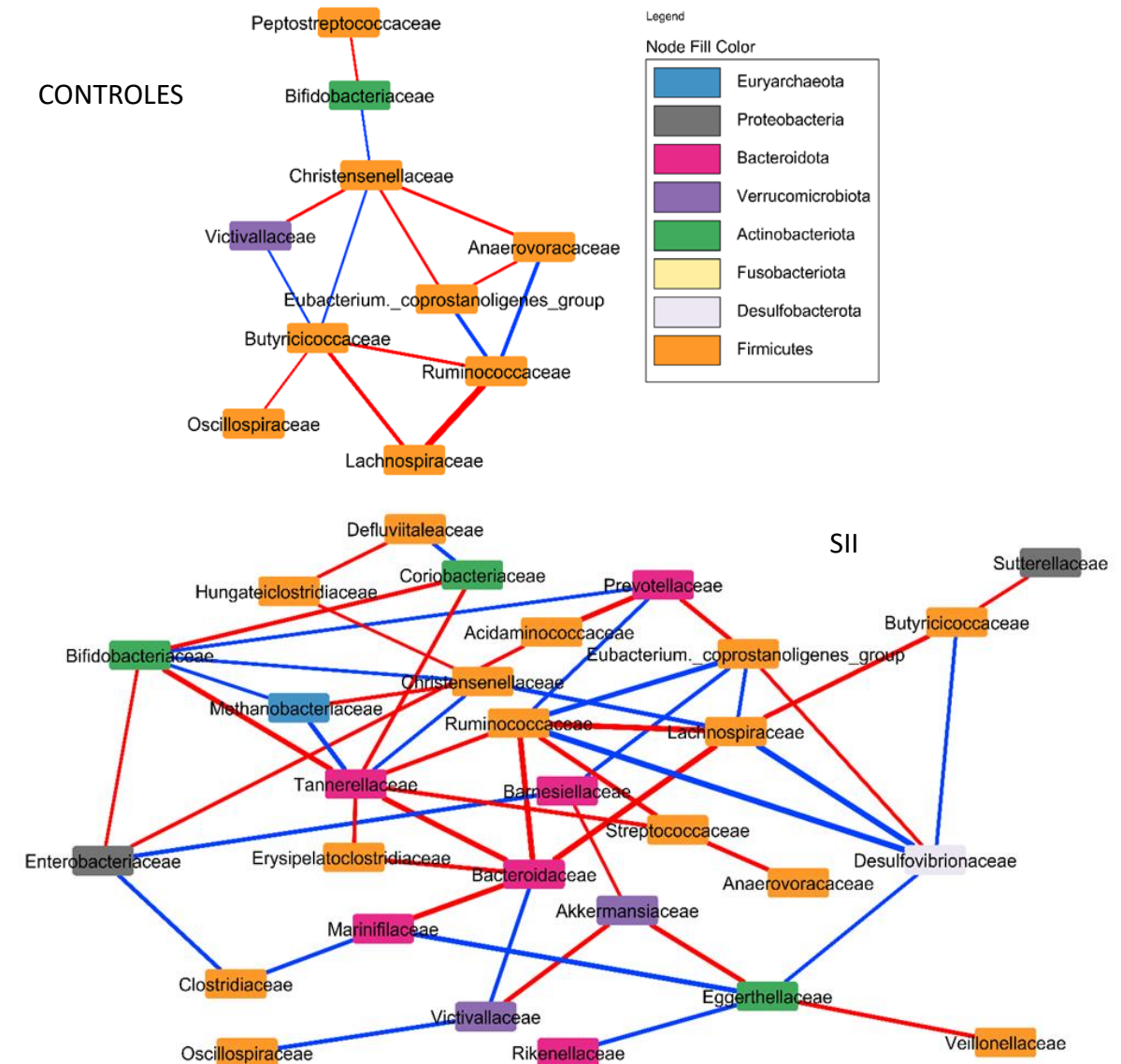


Figura 40. Géneros identificados como biomarcadores por Random Forest.

La "mean decrease accuracy" es una métrica utilizada en los modelos de Random Forest para evaluar la importancia de diferentes taxones en las predicciones del modelo. Cuanto mayor sea el valor positivo, más crucial será la característica para el modelo.

5.6 EL ANÁLISIS DE LA RED DE CORRELACIÓN IDENTIFICÓ INTERACCIONES CARACTERÍSTICAS ENTRE FAMILIAS EN PACIENTES CON SII

La red de correlación a nivel familiar, determinada por el algoritmo SparCC, reveló que las familias pertenecientes al filo Bacteroidota desempeñan un papel central en la microbiota intestinal de los pacientes con SII. Estas familias suelen servir como nodos con numerosas correlaciones, tanto positivas como negativas. En particular, tienden a exhibir correlaciones predominantemente positivas entre sí del mismo filo, mientras que muestran correlaciones tanto positivas como negativas con familias de otros filos. Además, la familia Christensenellaceae parece ser un actor clave en estos pacientes, siendo el nodo con las correlaciones estadísticamente más significativas. Algunas correlaciones negativas notables incluyen aquellas entre las familias Lachnospiraceae y Ruminococcaceae con Bacteroidaceae. Por el contrario, se observan correlaciones positivas significativas entre Bacteroidaceae y Victivallaceae, así como entre Lachnospiraceae y Desulfovibrionaceae, *Eubacterium coprostanigenes* y Christensenellaceae.



VI – DISCUSIÓN

VI -DISCUSIÓN

Este estudio demostró que la microbiota intestinal de pacientes con SII exhibía una variedad de características distintas en comparación con la microbiota intestinal de individuos sanos de la misma comunidad.

6.1. ALFA DIVERSIDAD Y RIQUEZA

Los pacientes con SII en nuestro estudio exhiben una microbiota intestinal con menor diversidad alfa en comparación con los controles sanos (figura 29). De manera similar, la revisión sistemática de Duan et al. reveló una tendencia general de diversidad alfa reducida en el SII, aunque se observaron algunas discrepancias (99). Sin embargo, Pittayanon et al. también señaló que, si bien muchos estudios informaron una diversidad alfa reducida en la microbiota intestinal de pacientes con SII, otros estudios no encontraron diferencias significativas (119). Otros estudios por el contrario si se alinean con nuestros resultados de alfa diversidad, con disminución de la misma (98,143– 145), hecho también recogido en dos metaanálisis (107,108). De manera particular, los pacientes con SII del presente estudio mostraron una mayor riqueza (es decir, un mayor número de especies detectadas) pero una menor diversidad alfa, lo que indica una menor heterogeneidad en la distribución de las especies y una predominancia de un número reducido de taxones. En comparación con los controles sanos, esta combinación de elevada riqueza y baja diversidad refleja una simplificación y un desbalance estructural de las comunidades microbianas, en las que un subconjunto limitado de especies adquiere un papel dominante. Este es un hallazgo notable y que podría tener importantes implicaciones terapéuticas. Sin embargo este resultado no ha sido consistente en estudios de casos y controles previos (99,119) evaluando el número de especies bacterianas detectadas en los pacientes de SII y en un grupo de controles sanos. Tan sólo en el estudio de Su (101) obtenemos similares resultados en disminución de la riqueza y en una menor diversidad alfa.

6.2. BETA DIVERSIDAD

En segundo lugar, el análisis de diversidad beta, tanto gráfico como estadístico, reveló claramente diferencias significativas entre las muestras de heces de pacientes con SII y controles sanos, como hemos mostrado en los resultados. La representación gráfica mediante el PCoA mostró una clara separación bien definida entre los dos grupos, lo que indica diferencias marcadas en la composición de la microbiota intestinal entre los pacientes con SII y los controles sanos. De forma complementaria, el dendrograma también evidenció la formación de dos grupos claramente diferenciados.

Las diferentes métricas de disimilitud que conforman el test PERMANOVA confirmaron con significación estadística incuestionable la separación de los dos grupos de pacientes. Por el contrario en la bibliografía consultada, la mayoría de trabajos (94–96,106,107,146–148), no han reportado diferencias significativas tras la aplicación del test PERMANOVA para las principales métricas de distancia que definen la beta diversidad, ni tampoco se pudo apreciar disimilitud gráficamente por PCoA. Tan sólo pudimos apreciar disimilitud gráfica y estadística en tres estudios, Rajilic (103) con tecnología ya obsoleta, ya que no empleaba técnicas secuenciación a partir del gen *16S rARN*, Carroll encontró sólo diferencias en los índices que miden la diversidad beta entre las microbiotas de controles sanos y pacientes del subgrupo SII-D (143) y finalmente Su en su artículo muestra una disminución de la riqueza y de la diversidad beta en todos los subgrupos de SII, pero los resultados son más significativos de nuevo en el subgrupo SII-D (101), pero sin que fueran tan concluyentes y significativos como los que ofrecen los datos de nuestro estudio. Estos hallazgos están en línea con la hipótesis de la existencia de una firma microbiana específica asociada al SII, evidente al analizar la distribución de las muestras en el gráfico del PCoA, donde se puede apreciar una separación muy clara entre los dos grupos, en consonancia con una estructura microbiana intestinal distintiva en las microbiotas de los pacientes con SII respecto a las microbiotas de los controles sanos. Asimismo, refuerzan la validez del diseño del estudio, en particular la adecuada selección del grupo control, ya que la marcada separación observada sugiere que los posibles factores de confusión descritos en estudios previos han sido minimizados.

6.3. GRUPOS BACTERIANOS QUE DIFERENCIALMENTE CARACTERIZAN LA MICROBIOTA INTESTINAL DE LOS PACIENTES CON SII

Mediante el árbol de calor (figura 36) se destacaron una serie de cambios específicos asociados al SII: a nivel de filo, los pacientes con SII mostraron una reducción de Bacillota y un aumento de Bacteroidota, lo que conlleva una notable disminución de la ratio Bacillota/Bacteroidota, hallazgo notable y que supone una de las principales conclusiones de nuestra investigación y define la base de la huella microbiótica del grupo de pacientes con SII.

Analizando en primer lugar, la disminución del numerador de la ratio, el filo Bacillota, se produjo a costa, sobre todo, de la clase Clostridia, de la que destacamos la depleción de la familia Lachnospiraceae (fue la reducción más significativa). Otras familias que mostraron una presencia disminuida en pacientes con SII fueron Christensenellaceae, Anaerovoracaceae, Oscillospiraceae y Butyrificoccaceae. Pese al descenso generalizado de Bacillota encontramos aumentos notables en las clases Negativicutes y Bacilli en familias como Acidaminococcaceae, Veillonellaceae, Streptococcaceae y Erysipelotoclostridiaceae.

En segundo lugar, el aumento del denominador de la ratio, el filo Bacteroidota fue impulsado principalmente por la expansión de familias que se incluyen dentro del orden Bacteroidales, como Bacteroidaceae, Tannerellaceae, Marinifilaceae, Barnesiellaceae, Rikenellaceae y Prevotellaceae. Se podría decir que el género *Bacteroides* es el género *core* de la microbiota de los pacientes con SII.

El análisis diferencial taxonómico empleando el árbol de calor reveló cambios significativos como el aumento de otros filos minoritarios como Desulfobacteroidota, Pseudomonadota, Euryarcheota y Actinomycetota.

De la misma manera el árbol de calor mostró descensos en filos minoritarios, siendo el descenso más acusado el de la familia Victivallaceae perteneciente al filo Lentisphaerota.

Los principales taxones diferenciales en los pacientes con SII y que mejor lo clasifican y podrían constituir una firma microbiótica son:

El aumento de los géneros *Bacteroides*, *Alistipes*, *Faecalibacterium*, *Odoribacter*, *Parabacteroides* y *Streptococcus*. La disminución de Lachnospiraceae y Ruminococcaceae.

En este sentido a nivel de género, los análisis de expresión diferencial de la microbiota de pacientes con SII, identificaron potenciales biomarcadores de la enfermedad, entre los que sobresalen *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Bifidobacterium*, *Parabacteroides*, *Subdoligranulum*, *Anaerostipes*, *Agathobacter*, *Alistipes*, *Odoribacter* y *Streptococcus*.

En los últimos cinco años, se han publicado varias revisiones sistemáticas de estudios de casos y controles que comparan la microbiota intestinal de pacientes con SII con la de controles sanos (64,99,100,105,119).

Seguramente debido a la automatización y proliferación de los sistemas de secuenciación, la mejora de los programas informáticos de análisis y la consolidación de las investigaciones del eje intestino cerebro, han aparecido nuevos estudios de revisión y metaanálisis de la microbiota y su papel en el SII (65,70,117,122,132,149).

Estos estudios han demostrado que la microbiota intestinal en el SII presenta un estado alterado, con un mayor índice de disbiosis, particularmente en los casos de SII-D (100).

Sin embargo, los hallazgos que caracterizan este estado de disbiosis o las desviaciones de la composición de los controles sanos han sido bastante inconsistentes. Esta inconsistencia se debe a varios factores, incluida la inclusión de pacientes con diferentes subtipos de SII y la heterogeneidad en la evaluación de la microbiota intestinal (105,119).

Aunque la mayoría de los trabajos de investigación han utilizado metodologías NGS dirigidas al gen *16S rARN*, sobre todo en los últimos estudios, las regiones amplificadas a menudo varían y se han utilizado diferentes bases de datos para la asignación taxonómica, incluso diferentes programas informáticos de clasificación, entre otras diferencias. Hay que tener en cuenta que los primeros estudios utilizaban qPCR, incluso arrays genómicos como tecnologías de análisis y además no se testaban todas las especies.

En cuanto a los cambios característicos en miembros específicos de la microbiota intestinal del SII, algunos autores han identificado tendencias más consistentes que otros.

Al contrario de nuestros resultados (figura 33), Duan et al. observaron un incremento de *Bacillota* (principalmente clase *Clostridia* y orden *Clostridiales*) y

una disminución de Bacteroidota (principalmente clase Bacteroidia y orden Bacteroidales) (99), aunque otra revisión sistemática informó hallazgos discrepantes (119) con la de Duan y más próxima a nuestros resultados. Encuentran una disminución del ratio Bacillota/Bacteroidota con incremento de *Bacteroides*, pero el descenso de Bacillota es a costa de depleción de Clostridiales con el género *Faecalibacterium* fundamentalmente y el filo Actinomycetota con *Bifidobacterium* como género más representativo. Esto es muy interesante a nivel de alternativas terapéuticas basadas en probióticos, porque al desaparecer o disminuir especies como *Faecalibacterium prausnitzii* (con efecto protector sobre la mucosa intestinal) o *Bifidobacterium longum* se exacerban los síntomas típicos del SII y son revertidos cuando se suministran estas especies mediante preparados probióticos.

Sin embargo, la coherencia entre las revisiones sistemáticas publicadas sigue siendo limitada. En particular, estos cambios subrayan la pérdida de géneros potencialmente beneficiosos, como *Faecalibacterium* (119), *Lactobacillus* (64,109) y *Bifidobacterium* (64,119). Sin embargo, a pesar de pertenecer a la clase Clostridia, *Faecalibacterium* mantuvo una abundancia relativamente alta en los pacientes con SII de nuestro estudio (figura 35). De hecho, fue hasta el segundo género más influyente de este grupo según el análisis del microbioma central (figura 36).

Los análisis de composición diferencial (figuras 39 y 40) destacaron a *Faecalibacterium* como un biomarcador característico en pacientes con SII. Por otro lado, *Bacteroides* mostró un aumento marcado y significativo en pacientes con SII, siendo el género más importante (figura 35). Esta observación concuerda con los resultados de algunas revisiones sistemáticas (119). Sin embargo, otros han informado resultados no concluyentes (64) o incluso una disminución en su abundancia relativa (99).

Un hallazgo consistente es el aumento en el filo Pseudomonadota, particularmente miembros de la familia Enterobacteriaceae (64,99,119), que también se observó en nuestro estudio (figura 33). La presencia de bacterias patógenas como *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia* y *Campylobacter*, no sería de extrañar en casos de SII-PI, en los que tras un episodio infeccioso quedarían como especies predominantes tal y como ocurre hasta en el 15% de los SII.

Varios cambios a nivel de género en la microbiota intestinal del SII observados en este estudio son consistentes con los reportados en la literatura. En la revisión de Aggeletopolou (149) comparando microbiotas de pacientes con SII

frente a controles sanos, aprecian niveles disminuidos de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, pero niveles elevados de *Escherichia coli* y *Enterobacter*, pero incluyen microbiotas de pacientes pertenecientes a diferentes países y con distintos estilos socioeconómicos y de alimentación, por lo que la heterogeneidad es elevada.

De manera anecdótica y como curiosidad, destacar que no se han realizado estudios multicéntricos; que de haberse realizado podían haber establecido un diseño uniforme que hubiera conducido a disminuir, al menos en parte, la elevada heterogeneidad encontrada hasta ahora en el resto de estudios. Tan sólo Chen (107) realizó algo similar a un estudio multicéntrico, con amplicones del gen *16S rARN* recogidos en diferentes países pero la gran mayoría pertenecían a Estados Unidos y Reino Unido. El análisis de posibles biomarcadores que podrían utilizarse en la patogénesis del SII y/o en el propio diagnóstico de los pacientes con SII utilizando estadísticos como Random Forest, destacamos varias coincidencias con nuestro estudio como el aumento de la familia Enterobacteriaceae, y el género *Streptococcus* y la depleción de los géneros *Faecalibacterium* y *Bifidobacterium*.

Es importante reseñar que algunas de estas revisiones sistemáticas intentaron determinar si una firma específica de la microbiota intestinal está asociada con el subtipo de SII de los sujetos incluidos.

La pregunta clave es si existe un perfil de microbiota intestinal que diferencie los subtipos de SII-D y SII-M. Si bien algunos autores han observado cambios significativos entre los dos subtipos en estudios individuales, estos hallazgos son inconsistentes (99,119).

En el metaanálisis de Salmeri (132) se detalló que aunque identificaron ciertas bacterias relacionadas con el SII, no se encontraron diferencias significativas en la microbiota intestinal entre los diferentes subtipos de SII. Tan sólo se reportaba un descenso de especies del género *Prevotella* y del orden Methanobacteriales, pero que servía para discriminar los SII con mayor severidad de los SII moderados y de los controles sanos.

Por otro lado, Teige et al informaron que solo la microbiota intestinal de pacientes con SII-D mostró diferencias significativas en comparación con los controles sanos. Se observó un aumento de *Ruminococcus gnavus* en estos sujetos en dos de los cinco estudios incluidos en su revisión sistemática, que utilizó específicamente la prueba de disbiosis GA-map® para caracterizar la microbiota

intestinal (100). Esta prueba utiliza el índice de disbiosis como herramienta diagnóstica entre la normalidad y la disbiosis utilizando una ratio entre la presencia y ausencia de diferentes marcadores bacterianos que pueden estar o no presentes en función de la patogenicidad o no de la propia especie bacteriana. Sin embargo, los resultados fueron bastante inconsistentes, con la mencionada sobreexpresión de *Ruminococcus gnavus* y un aumento del índice de disbiosis en el subtipo SII-D.

En este sentido, recientemente se ha publicado un estudio descriptivo extenso y completo, que examina las firmas de la microbiota intestinal en 942 pacientes con SII, con datos clínicos y dietéticos detallados, y los compara con 942 controles sin SII que fueron apareadas por edad, sexo, IMC, país, y dieta (101). A través de PCoA y la prueba PERMANOVA de distancias de Bray-Curtis, los pacientes con SII-D, SII-E y SII-U exhibieron distintos patrones de agrupamiento compositivo en su microbiota intestinal.

La alfa diversidad disminuyó en relación con los controles en pacientes con los subtipos de SII-D y SII-U, pero no con SII-C. Además, un análisis LEfSe identificó características específicas de la microbiota intestinal asociada con cada fenotipo de SII en comparación con el grupo de control emparejado. Once géneros exhibieron tendencias contrastantes entre los diferentes grupos de estudio. Por ejemplo, géneros como *Subdoligranulum*, *Dorea*, *Eubacterium hallii* group y *Haemophilus* se enriquecieron en SII-D, pero se redujeron en SII-E. Los autores también observaron que muchas bacterias identificadas como enriquecidas en pacientes con SII eran patógenos potenciales. Específicamente, *Ruminococcus gnavus* se asoció con el SII-D, *Oscillibacter* con el SII-E y *Ruminococcus torques* con el SII-U. Por el contrario, se encontró que las bacterias beneficiosas como *Butyrivoccus* en el SII-E, *Alistipes* en el SII-D y *Turicibacter* en el SII-U estaban agotadas. Al emplear un tamaño de muestra adecuado y controlar los factores de confusión, este estudio identificó las características de las bacterias y la microbiota intestinal asociadas con cada subtipo de SII (101). Por lo tanto, una clara limitación de nuestro estudio es la falta de subanálisis basados en el fenotipo del SII. Esta limitación surgió porque el pequeño tamaño de la muestra de 25 pacientes con SII, la mayoría pertenecientes al subtipo SII-D, no permitió una estratificación tan detallada. En futuras investigaciones el grupo de pacientes con SII debe estar mejor representado tanto en el número total como en los diferentes subtipos de SII.

En una de las últimas revisiones publicadas a finales de 2024, Surdea-Blaga concluye que el perfil microbiano de los enfermos con SII-D es muy similar a los SII-M. Los principales cambios en las especies microbianas en los pacientes con SII respecto a controles sanos serían los aumentos de la familia Enterobacteriaceae y los géneros *Ruminococcus*, *Clostridium* y *Dorea* y las disminuciones clásicas de géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Faecalibacterium*.

Aunque es un desafío adoptar un enfoque mecanicista de los resultados obtenidos basándose únicamente en la composición de la microbiota intestinal en pacientes con SII, algunos hallazgos de nuestro estudio fueron clínicamente significativos y podrían estar asociados con ciertos procesos fisiopatológicos.

Existe evidencia que sugiere que las bacterias patógenas desempeñan un papel tanto en la aparición como en la exacerbación de los síntomas en pacientes con SII.

Pacientes con SII presentan alteraciones en las uniones estrechas entre las células de la mucosa gastrointestinal, lo que impide preservar la propia función de barrera que ejerce la mucosa (48).

La lámina propia del intestino constituye un ecosistema densamente poblado de células inmunes y es aquí donde los patógenos contribuyen a la activación y proliferación de estas células inmunes que se ven involucradas en la fisiopatología del SII, elementos como macrófagos, células dendríticas, monocitos, mastocitos y linfocitos T (activación de vías proinflamatorias Th1 y Th17), y que promoverán la secreción de citoquinas proinflamatorias, bien sea en respuesta a la estimulación bacteriana directa o bien de manera indirecta a través de antígenos bacterianos.

En pacientes con ansiedad y depresión se han encontrado elevaciones de citoquinas proinflamatorias como IL-6, TNF-alfa e IL-1beta demostrando el papel del eje intestino-cerebro-microbiota.

De hecho el tratamiento con cepas probióticas de *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium breve*, entre otras, consigue preservar la integridad de la barrera y disminuir los síntomas del SII al controlar la cantidad y la actividad de las citoquinas proinflamatorias (48).

En ocasiones también se produce reactividad cruzada entre las proteínas del paciente y los antígenos bacterianos por un mecanismo de mimetismo molecular.

Estas respuestas inmunes conducen a un aumento de la permeabilidad intestinal, alteraciones en la motilidad intestinal y desregulación de la señalización del dolor (126). Otras veces los mediadores liberados por los mastocitos son capaces de estimular directamente los nervios transmisores del dolor (70).

En pacientes con SII-PI detectan mayores cantidades de células inmunes en la lámina propia, sobre todo mastocitos y linfocitos T (subpoblaciones Th1, Th2, Th17 y Treg). Esta abundancia de células inmunes intestinales se ha relacionado con el sexo de los pacientes con SII, detectando en las mujeres mayores cifras de mastocitos y menores de linfocitos T (70).

Nuestro estudio demostró que la microbiota de los individuos con SII era característica de un estado de disbiosis menos equilibrado, marcado por la expansión de patógenos conocidos como las enterobacterias. Además, nuestros casos de SII mostraron un agotamiento significativo de bacterias productoras de AGCC, con una reducción pronunciada de miembros de las familias Lachnospiraceae (principalmente) y Ruminococcaceae (ambas pertenecientes al filo Bacillota, orden Clostridiales), un mecanismo que probablemente contribuya a la patogénesis de la afección. El butirato, el principal AGCC, tiene un potente efecto antiinflamatorio al inducir células reguladoras inmunitarias (150). De hecho, es conocida la asociación entre la desregulación metabólica de la síntesis de AGCC y el SII. En condiciones normales los microorganismos de la microbiota colónica fermentan los carbohidratos complejos no digeribles (fibra dietética) de la dieta sintetizando acetato, propionato y butirato. Los AGCC tienen múltiples efectos; favorecen la integridad de la barrera intestinal promoviendo la expresión de proteínas de unión estrecha (*tight junctions*) y regeneran la capa mucosa al estimular la producción de mucina. También tienen efectos sobre el sistema inmune al ayudar a mantener la tolerancia inmunitaria en el intestino, al regular la respuesta de células dendríticas y linfocitos T, amén de ser favorecedores de la producción de citoquinas antiinflamatorias como IL-10, por ejemplo. Al acidificar (como ácidos que son) dificultan la colonización por patógenos intestinales. A nivel energético el butirato es la principal fuente de energía de los colonocitos. También ejercen un impacto en la expresión génica relacionada con la inflamación, la proliferación celular y la diferenciación inmunitaria, por su actividad inhibidora de las enzimas desacetiladoras de las histonas. Finalmente los AGCC participan en el eje intestino-cerebro modulando la producción de neuromediadores y activando

receptores GPR41 y GPR43 (involucrados en la regulación del metabolismo energético y la homeostasis de la glucosa) y estimulan la secreción de GLP-1 y PYY desde las células L del intestino. En pacientes con SII-E se observan niveles disminuidos de propionato y butirato fecales, mientras que en pacientes con SII-D detectan niveles elevados de butirato fecal. Si aumenta la motilidad intestinal y la fermentación colónica en SII-D, pueden elevarse los niveles de AGCC y provocar una absorción intestinal más lenta y su acúmulo en las heces. En pacientes SII-E la reducción de concentraciones de acetato produce un enlentecimiento de las deposiciones y altera la fermentación y la síntesis intestinal de nuevos AGCC (70).

Tenemos que tener muy en cuenta que el grosor y la composición de la mucosa intestinal está muy influenciada por especies que se han visto alteradas en los pacientes con SII de nuestro estudio: *Ruminococcus*, *Bacteroides* y sobre todo *Faecalibacterium prausnitzii* (48).

En consecuencia, es probable que la microbiota intestinal alterada en pacientes con SII establezca un microambiente proinflamatorio que exacerba la disfunción del epitelio intestinal.

Por otro lado, el agotamiento de Clostridia y el enriquecimiento de clases de Bacteroidia observados en la microbiota intestinal del SII deberían afectar la composición y concentración de la reserva de ácidos biliares. Sintetizados a partir del colesterol y almacenados en la vesícula biliar, son liberados en el tracto gastrointestinal tras la ingesta de alimentos, donde se transforman en ácidos biliares secundarios por acción directa de la microbiota intestinal. Por ejemplo, varias especies de *Bacteroides* exhiben una actividad elevada de hidrolasa de sales biliares (BSH), que desconjuga los ácidos biliares primarios de la taurina y la glicina (151). Esta alteración puede afectar a los receptores clave de ácidos biliares, incluido el receptor 1 de ácidos biliares acoplado a proteína G (TGR5) y el receptor farnesoide X (FXR), que son cruciales para el correcto funcionamiento del eje intestino-cerebro.

Está comprobado que el aumento de concentración de los principales ácidos biliares primarios contribuye (48) a exacerbar los síntomas del SII, al aumentar la permeabilidad intestinal como consecuencia del daño celular provocado y la alteración de la integridad de las uniones estrechas entre células de la mucosa intestinal.

En las heces de pacientes con SII-D se ha demostrado un aumento de ácidos biliares primarios mientras que en heces de pacientes con SII-E estos niveles se ven reducidos y se ralentiza el tránsito intestinal desembocando en estreñimiento (70).

Por otro lado, la biotransformación metabólica que ejerce la microbiota intestinal sobre los ácidos biliares primarios, sobre todo en el colon, genera ácidos biliares secundarios con actividad biológica beneficiosa como el ácido desoxicólico y el ácido litocólico que son los encargados de activar los TGR.

Algunas especies de *Clostridium* convierten el ácido cólico en desoxicólico (poseen actividad 7-alfa-deshidroxilasa) lo que mejora la función gastrointestinal, por disminución de la disquinesia gastrointestinal, lo que abre la puerta a la colonización con *Clostridium* formadores de esporas.

Zhan et al. han discutido cómo estos cambios en los perfiles de ácidos biliares influyen en la fisiopatología del subtipo SII-D (151).

En una revisión reciente se constata hasta un 28% de pacientes con SII-D y malabsorción de ácidos biliares, en los que un fármaco secuestrador de ácidos biliares como la coleilenida proporcionaba una notable mejoría terapéutica (70).

Otro punto destacable del presente estudio es el aumento de Methanobacteriaceae en nuestros casos de SII (figura 37). Si esta familia incluyera *Methanobrevibacter smithii* y/o *Methanobacter stadtmanae*, sugeriría una producción elevada de metano (CH_4) e hidrógeno (H_2) a partir de la fermentación de polisacáridos (48)

Estudios anteriores han demostrado que una mayor presencia de esta bacteria en las heces de pacientes con SII-E se asocia con una mayor producción intestinal de metano (CH_4) e hidrógeno (H_2), lo que contribuye a alteraciones en la permeabilidad y la motilidad intestinal (85). Por lo tanto, este hallazgo podría tener implicaciones significativas para los pacientes con SII-E en nuestro estudio.

En la microbiota intestinal de pacientes con SII hemos destacado el aumento de especies de Proteobacteria de las que *Escherichia coli* es una de las más abundantes. Junto a *Morganella morganii* están consideradas como las principales especies productoras de histamina, principalmente por la descarboxilación de la histidina. Este aumento de histamina altera la motilidad intestinal, la secreción de iones y la permeabilidad de la mucosa. Por tanto, la disbiosis que afecta a este tipo

de microorganismos productores de histamina, juega un papel principal en el desarrollo y progresión del SII (70).

Géneros como *Lactobacillus* y *Clostridium* (cuya composición se ve afectada en nuestro estudio) producen otras poliaminas que estimulan la secreción de E-cadherina, reforzando la función de barrera de la mucosa, hecho que en caso de existir depleción no se producirá (48).

Es conocido también el papel de la microbiota intestinal en la síntesis de neurotransmisores como las catecolaminas y el GABA. Entre ellos destaca el papel de la dopamina con la percepción del dolor y la ansiedad, pero también regula la hipersensibilidad visceral y la permeabilidad colónica (receptores de dopamina D2).

La actividad proteolítica elevada en el intestino producto de la disbiosis también afecta a la hipersensibilidad visceral sobre todo al afectar a la integridad de la mucosa y al papel de barrera que ejerce. Especies de *Alistipes* con actividad beta-glucuronidasa pueden contrarrestar esta actividad proteolítica (70).

Especies del filo Fusobacteriota sintetizan quercetina a partir de diversas verduras, frutas y cereales. Este flavonoide tiene un efecto modulador de otro neurotransmisor, la acetilcolina, mejorando la hipersensibilidad visceral, al disminuir la actividad triptófano hidrolasa y por ende la concentración de serotonina colónica (70).

Dentro de esta actividad proteolítica, existen unos sensores químicos intestinales que regulan el peristaltismo intestinal. Dos productos de la actividad microbiana como son putrescina y cadaverina están considerados como posibles biomarcadores en el SII-D.

Otras consecuencias de la disbiosis la producen patógenos intestinales con actividad proteolítica exacerbada, que secretan toxinas formadoras de poros o péptidos N-formilados, que alteran la integridad del epitelio intestinal, al permitir movimientos de mediadores inflamatorios a un lado y otro de la barrera, permitiendo la despolarización de las neuronas nociceptoras y la consiguiente alteración de la sensibilidad visceral (70).

Los niveles elevados de D-lactato y diaminoxidasa están relacionados con una mayor gravedad del SII, por lo que estarían considerados también como posibles biomarcadores de gravedad de la enfermedad (48). Estos metabolitos se

han correlacionado con pacientes de SII con exceso de bacterias perjudiciales como *Proteobacteria* y disminución o depleción de beneficiosas como serían los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, tal y como ocurre en nuestro estudio.

Una fortaleza clave de este estudio es el reclutamiento de un gran grupo de controles sanos, seleccionados mediante estrictos criterios de inclusión y exclusión, de la misma población comunitaria que los casos de SII. Este enfoque es crucial en los estudios comparativos de microbiotas, ya que existen variaciones significativas en la composición microbiana y las funciones codificadas por el metagenoma de la microbiota intestinal en diferentes poblaciones (63). Estas diferencias, particularmente evidentes en las vías metabólicas e inmunes, reflejan diversas condiciones ambientales, hábitos dietéticos y estilos de vida. Estas variaciones pueden influir en la salud general y la susceptibilidad a las enfermedades. Por lo tanto, para minimizar la variabilidad relacionada con la geografía, la edad y las condiciones ambientales, seleccionamos cuidadosamente controles saludables que sean demográfica y ambientalmente similares a los casos de SII. Sin embargo, la dieta siguió siendo un factor no controlado, a pesar de ser un importante modulador de la microbiota intestinal (152). Dado que la mayoría de los sujetos de ambos grupos tenían un peso normal, suponemos que sus dietas son en general similares a la dieta mediterránea, caracterizada por una menor abundancia de alimentos ricos en grasas y productos ultraprocesados. Es por todos conocido, que la dieta mediterránea se caracteriza por la abundancia de frutas y verduras, aceite de oliva, es decir una composición rica en fibra insoluble y baja en FODMAP, lo que en principio sirve para mejorar los síntomas del SII. Fundamentalmente porque regulan la propia composición de la microbiota y la producción de gas al reducir la fermentación. Cuando se instaure en un paciente con SII una dieta baja en FODMAP se limita la duración a 6 semanas, para luego ir reintroduciendo algunos alimentos, porque en algunos ensayos clínicos se han observado descensos a largo plazo de especies como *Akkermansia* o *Bifidobacterium* que podrían ser perjudiciales (70). Algunos alimentos ricos en FODMAP y que son habituales en la dieta mediterránea como las legumbres deben ser controlados por la fermentación y el exceso de gas que producen. Todo esto se resume en que las intervenciones dietéticas de producirse han de ser controladas y personalizadas cuando se efectúan en pacientes con SII, no así cuando hablamos de controles sanos.

Las mujeres constituían predominantemente el grupo con SII (84,6% frente a 15,4%), mientras que el grupo de control estaba más equilibrado en términos de distribución por sexo (48,2% frente a 51,8%). Estudios limitados han examinado exhaustivamente el impacto del sexo en la composición de la microbiota intestinal y, en general, los hallazgos no han sido concluyentes ni consistentes (153). Por ejemplo, la investigación de Falony et al, en un estudio en el que participaron dos cohortes ampliamente fenotipadas, se identificó el sexo como la décima variable más importante (el tamaño del efecto como covariable) que influye en la composición de la microbiota intestinal (154). Esto sugiere que, si bien el sexo podría influir, su impacto es relativamente menor en comparación con otros factores que afectan la diversidad y composición de la microbiota.

Con todos estos factores y variables que hemos venido relatando y correlacionando con nuestros resultados, confirmamos que el SII es un trastorno digestivo funcional de origen multifactorial, resultado de la combinación resultante de un trasfondo genético, diversos factores psicosociales y alteraciones en la microbiota intestinal.

La existencia de un eje intestino-cerebro-microbiota es cada día más evidente y cómo el conocimiento sobre la disbiosis, como indicador de cómo la alteración de la microbiota intestinal afecta a dicho eje, aporta cada día más luz sobre su papel clave y preponderante en la fisiopatología del SII

En resumen, nuestros resultados revelan diferencias estadística y clínicamente significativas en la composición y diversidad de la microbiota intestinal entre pacientes con SII y controles sanos de la misma comunidad. Los datos de beta diversidad encontrados arrojan una gran fortaleza en la selección del grupo de control frente al grupo de pacientes con SII, dando más valor a los resultados encontrados diferenciales entre ambos. Específicamente, el estado de disbiosis de la microbiota intestinal del SII se refleja en un desequilibrio en términos de diversidad alfa y cambios claros en la abundancia de numerosos taxones. Estos hallazgos proporcionan una comprensión más profunda de cómo las alteraciones en la microbiota intestinal pueden contribuir a los síntomas del SII.

En controles sanos, como los que han participado en nuestro estudio, la composición de la microbiota intestinal está mayoritariamente constituida por las especies beneficiosas que más frecuentemente se asocian a una homeostasis gastrointestinal:

Dentro del filo Bacillota los géneros *Enterococcus*, *Ruminococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium*, *Roseburia* y *Eubacterium*, además de mantener la homeostasis intestinal participan en la síntesis de colesterol y en la transformación de los ácidos biliares. También participan en el metabolismo de los principales principios inmediatos, en la síntesis de vitaminas y contribuyen a la respuesta inmune, así como a mantener la integridad de la barrera, regular vías metabólicas incluso el apetito.

En el filo Bacteriodota serían *Bacteroides* y *Prevotella* los encargados de modular la respuesta inmune, las vías metabólicas y el apetito, mientras que Actinobacterias como *Bifidobacterium* y *Corynebacterium* se responsabilizarían de la protección frente a patógenos y a la síntesis de vitaminas.

La identificación de patrones microbianos específicos podría ofrecer nuevos conocimientos sobre el diagnóstico y tratamiento del SII.

Los resultados sugieren que las intervenciones destinadas a restaurar una composición saludable de la microbiota podrían ser una estrategia terapéutica prometedora para los pacientes con SII, a través de en primer lugar, realizar una intervención dietética, (como reducir los alimentos FODMAP, por ejemplo), o a continuación emplear el uso de probióticos, prebióticos, simbióticos, incluso el trasplante de materia fecal en última instancia.

La comprensión del papel de la microbiota en los diferentes subtipos de SII, servirá para una mejor optimización de las estrategias terapéuticas individualizadas, en los tiempos actuales de la medicina personalizada y de precisión. Además, los enfoques personalizados para el tratamiento del SII, basados en perfiles microbianos individuales, pueden abrir nuevas vías para la investigación de nuevos tratamientos.

VII – CONCLUSIONES

VII - CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos evidencian diferencias estadísticamente significativas y clínicamente relevantes en la composición y diversidad de la microbiota intestinal entre los pacientes con SII y el grupo de controles sanos pertenecientes a la misma comunidad. Los resultados obtenidos respaldan la implicación del eje microbiota-intestino-cerebro en la fisiopatología del SII y sugieren que la modulación dirigida de la microbiota podría representar una estrategia terapéutica prometedora. Asimismo, los perfiles microbianos diferenciales identificados podrían constituir la base para el desarrollo de biomarcadores asociados a la evolución clínica del trastorno.

Las principales conclusiones de este trabajo de tesis doctoral son:

- En los pacientes con SII, la microbiota intestinal muestra una mayor riqueza, aunque con una menor diversidad alfa, en comparación con los controles sanos.
- La distribución de las muestras en el gráfico del PCoA mostró una separación evidente entre los dos grupos, lo que sugiere una estructura microbiana intestinal distintiva en los pacientes con SII respecto a los controles sanos.
- Los resultados del test PERMANOVA, aplicado a diversas métricas de disimilitud, respaldaron la separación observada en el PCoA y confirmaron que las diferencias en la composición de la microbiota intestinal entre pacientes con SII y controles sanos son estadísticamente significativas.
- El análisis diferencial taxonómico reveló cambios significativos en la composición de la microbiota intestinal de los pacientes con SII en comparación con los controles sanos, destacando:
 - Reducción del filo Bacillota, atribuible principalmente a una disminución en la clase Clostridia, con una notable depleción de la familia Lachnospiraceae.
 - Incremento del filo Bacteroidota, impulsado por la expansión de familias que se incluyen dentro del orden Bacteroidales, como Bacteroidaceae, Rikenellaceae o Prevotellaceae, entre otras.

- *Bacteroides* es el género *core* de los pacientes con SII.
- Aumento de otros filos minoritarios, como Desulfobacterota, Pseudomonadota y Methanobacteriota (antiguamente Euryarchaeota), lo que se traduce en incrementos en familias como Enterobacteriaceae y Methanobacteriaceae.
- Los análisis de expresión diferencial a nivel de género identificaron diversos taxones asociados a la microbiota intestinal de pacientes con SII. Entre ellos, destacan *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Bifidobacterium*, *Parabacteroides*, *Subdoligranulum*, *Anaerostipes*, *Agathobacter*, *Alistipes*, *Odoribacter* y *Streptococcus*, entre otros, los cuales podrían actuar como potenciales biomarcadores de la enfermedad.
- El análisis de redes de correlación confirma el papel central de las familias del filo Bacteroidota en la microbiota intestinal de los pacientes con SII, actuando como nodos altamente conectados. Estas familias muestran correlaciones predominantemente positivas entre sí y asociaciones tanto positivas como negativas con familias de otros filos.

VIII - LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

VIII - LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

La principal limitación del estudio es el número de muestras que pertenecen al grupo de enfermos de SII, sobre todo de los diferentes subtipos y categorías IBS-SSS. Disponer de un mayor número reforzaría los resultados obtenidos y nos permitiría comprobar si existen diferencias significativas en la firma microbiótica obtenida en los diferentes subtipos de SII por un lado y en función de la gravedad de la enfermedad según la escala IBS-SSS por otro.

Como hemos comentado anteriormente es fundamental conocer el papel de la microbiota intestinal en la fisiopatología del SII y comprender cómo se desarrolla el dolor visceral. Encontrar biomarcadores específicos de la enfermedad también nos ayudará a diagnosticar y monitorizar el tratamiento de la misma. Se necesitan investigaciones futuras para comprender mejor el papel de la microbiota intestinal en pacientes con SII y para comprender la génesis del dolor visceral. La identificación de biomarcadores que pudieran correlacionar con la evolución de la enfermedad o que pudieran predecir la respuesta al tratamiento también se consideran esenciales.

Desde el punto de vista del tratamiento de la enfermedad se necesitan ensayos comparativos directos con un número mayor de participante que comparen las diferentes modalidades terapéuticas (dieta, prebióticos, postbióticos, simbióticos, antibióticos, incluso el trasplante de materia fecal) de manera que el abordaje sea individualizado en el contexto actual de la medicina personalizada y de precisión.

IX - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

IX - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Drossman DA, Hasler WL. Rome IV-Functional GI Disorders: Disorders of Gut-Brain Interaction. *Gastroenterology*. 2016;150(6):1257-61.
2. Black CJ, Drossman DA, Talley NJ, Ruddy J, Ford AC. Functional gastrointestinal disorders: advances in understanding and management. *Lancet Lond Engl*. 2020;396(10263):1664-74.
3. Alonso-Bermejo C, Barrio J, Fernández B, García-Ochoa E, Santos A, Herreros M, et al. [Functional gastrointestinal disorders frequency by Rome IV criteria]. *An Pediatr*. 2021;S1695-4033(21)00209-5.
4. Sperber AD, Bangdiwala SI, Drossman DA, Ghoshal UC, Simren M, Tack J, et al. Worldwide Prevalence and Burden of Functional Gastrointestinal Disorders, Results of Rome Foundation Global Study. *Gastroenterology*. 2021;160(1):99-114.e3.
5. Mearin F, Lacy BE, Chang L, Chey WD, Lembo AJ, Simren M, et al. Bowel Disorders. *Gastroenterology*. 2016;S0016-5085(16)00222-5.
6. Drossman DA. Functional Gastrointestinal Disorders: History, Pathophysiology, Clinical Features and Rome IV. *Gastroenterology*. 2016;S0016-5085(16)00223-7.
7. Sebastián Domingo JJ. The new Rome criteria (IV) of functional digestive disorders in clinical practice. *Med Clin (Barc)*. 2017;148(10):464-8.
8. Ford AC, Lacy BE, Talley NJ. Irritable Bowel Syndrome. *N Engl J Med*. 2017;376(26):2566-78.
9. R. W, P. L, F. H. Síndrome de intestino irritable (SII): Nuevos conceptos en 2023. *Medicina (Mex)*. 2022;44:347-71.
10. Páramo Hernández DB, Pineda Ovalle LF, Moya Valenzuela LM, Concha Mejía A. Trastornos de la interacción cerebro-intestino (trastornos funcionales digestivos), racionalidad para el uso de la neuromodulación. *Rev Colomb Gastroenterol*. 2023;38(2):180-7.
11. Engel GL. The clinical application of the biopsychosocial model. *Am J Psychiatry*. 1980;137(5):535-44.
12. Wood JD, Alpers DH, Andrews PL. Fundamentals of neurogastroenterology. *Gut*. 1999;45 Suppl 2(Suppl 2):II6-16.

13. Ghoshal UC. Marshall and Warren Lecture 2019: A paradigm shift in pathophysiological basis of irritable bowel syndrome and its implication on treatment. *J Gastroenterol Hepatol*. 2020;35(5):712-21.
14. Black CJ, Thakur ER, Houghton LA, Quigley EMM, Moayyedi P, Ford AC. Efficacy of psychological therapies for irritable bowel syndrome: systematic review and network meta-analysis. *Gut*. 2020;69(8):1441-51.
15. Ford AC, Sperber AD, Corsetti M, Camilleri M. Irritable bowel syndrome. *Lancet Lond Engl*. 2020;396(10263):1675-88.
16. Manning AP, Thompson WG, Heaton KW, Morris AF. Towards positive diagnosis of the irritable bowel. *Br Med J*. 1978;2(6138):653-4.
17. Kruis W, Thieme C, Weinzierl M, Schüssler P, Holl J, Paulus W. A diagnostic score for the irritable bowel syndrome. Its value in the exclusion of organic disease. *Gastroenterology*. 1984;87(1):1-7.
18. Drossman D, Thompson W, Talley N, Funch-Jensen P, Janssens J, Whitehead W. Identification of sub-groups of functional gastrointestinal disorders. Vol. 3, *Gastroenterology International*. 1990.
19. Thompson WG, Longstreth GF, Drossman DA, Heaton KW, Irvine EJ, Müller-Lissner SA. Functional bowel disorders and functional abdominal pain. *Gut*. 1999;45 Suppl 2(Suppl 2):II43-47.
20. Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. *Gastroenterology*. 2006;130(5):1480-91.
21. Lewis SJ, Heaton KW. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol*. 1997;32(9):920-4.
22. Schmulson MJ, Drossman DA. What Is New in Rome IV. *J Neurogastroenterol Motil*. 2017;23(2):151-63.
23. Barbara G, Grover M, Bercik P, Corsetti M, Ghoshal UC, Ohman L, et al. Rome Foundation Working Team Report on Post-Infection Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology*. 2019;156(1):46-58.e7.
24. Menees S, Chey W. The gut microbiome and irritable bowel syndrome. *F1000Research*. 2018;7:F1000 Faculty Rev-1029.
25. Enck P, Aziz Q, Barbara G, Farmer AD, Fukudo S, Mayer EA, et al. Irritable bowel syndrome. *Nat Rev Dis Primer*. 2016;2:16014.
26. Sperber AD, Dumitrascu D, Fukudo S, Gerson C, Ghoshal UC, Gwee KA, et al. The global prevalence of IBS in adults remains elusive due to the

- heterogeneity of studies: a Rome Foundation working team literature review. *Gut*. 2017;66(6):1075-82.
27. Mearin F, Caballero AM, Serra J, Brotons C, Tantiñà A, Fort E, et al. A retrospective and prospective 12-month observational study of the socioeconomic burden of moderate to severe irritable bowel syndrome with constipation in Spain. *Gastroenterol Hepatol*. 2019;42(3):141-9.
 28. Halder SLS, Locke GR 3rd, Schleck CD, Zinsmeister AR, Melton LJ 3rd, Talley NJ. Natural history of functional gastrointestinal disorders: a 12-year longitudinal population-based study. *Gastroenterology*. 2007;133(3):799-807.
 29. Ford AC, Forman D, Bailey AG, Axon ATR, Moayyedi P. Irritable bowel syndrome: a 10-yr natural history of symptoms and factors that influence consultation behavior. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(5):1229-39; quiz 1240.
 30. John Britto JS, Di Ciaula A, Noto A, Cassano V, Sciacqua A, Khalil M, et al. Gender-specific insights into the irritable bowel syndrome pathophysiology. Focus on gut dysbiosis and permeability. *Eur J Intern Med*. 2024;125:10-8.
 31. Almansa C, Díaz-Rubio M, Rey E. The burden and management of patients with IBS: Results from a survey in spanish gastroenterologists. *Rev Esp Enferm Dig*. 2011;103(11):570-5.
 32. Buono JL, Carson RT, Flores NM. Health-related quality of life, work productivity, and indirect costs among patients with irritable bowel syndrome with diarrhea. *Health Qual Life Outcomes*. 2017;15(1):35.
 33. Staudacher HM, Black CJ, Teasdale SB, Mikocka-Walus A, Keefer L. Irritable bowel syndrome and mental health comorbidity - approach to multidisciplinary management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2023;20(9):582-96.
 34. Hu Z, Li M, Yao L, Wang Y, Wang E, Yuan J, et al. The level and prevalence of depression and anxiety among patients with different subtypes of irritable bowel syndrome: a network meta-analysis. *BMC Gastroenterol*. 2021;21(1):23.
 35. Black CJ, Ford AC. Global burden of irritable bowel syndrome: trends, predictions and risk factors. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2020;17(8):473-86.
 36. Hearn M, Whorwell PJ, Vasant DH. Stigma and irritable bowel syndrome: a taboo subject? *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2020;5(6):607-15.
 37. Canavan C, West J, Card T. Change in Quality of Life for Patients with Irritable Bowel Syndrome following Referral to a Gastroenterologist: A Cohort Study. *PloS One*. 2015;10(10):e0139389.
 38. Canavan C, West J, Card T. Review article: the economic impact of the irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther*. 2014;40(9):1023-34.

39. Mearin F, Sans M, Balboa A. Relevancia y necesidades del síndrome del intestino irritable (SII): comparación con la enfermedad inflamatoria intestinal (EII). (Por favor, si no te interesa el SII, léelo.). *Gastroenterol Hepatol*. 2022;45(10):789-98.
40. Vasant DH, Paine PA, Black CJ, Houghton LA, Everitt HA, Corsetti M, et al. British Society of Gastroenterology guidelines on the management of irritable bowel syndrome. *Gut*. 2021;70(7):1214-40.
41. Hung KW, Leiman DA, Kaza A, Watson R, Chang L, Maratt JK. AGA Institute Quality Indicator Development for Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology*. 2025;S0016-5085(24)05666-X.
42. EMA Guideline on the evaluation of medicinal products for the treatment of irritable bowel syndrome. 2014.
43. Chey WD, Kurlander J, Eswaran S. Irritable bowel syndrome: a clinical review. *JAMA*. 2015;313(9):949-58.
44. Lovell RM, Ford AC. Global prevalence of and risk factors for irritable bowel syndrome: a meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol Off Clin Pract J Am Gastroenterol Assoc*. 2012;10(7):712-721.e4.
45. Margolis KG, Cryan JF, Mayer EA. The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. *Gastroenterology*. 2021;160(5):1486-501.
46. Mayer EA, Ryu HJ, Bhatt RR. The neurobiology of irritable bowel syndrome. *Mol Psychiatry*. 2023;28(4):1451-65.
47. Hellström PM. Pathophysiology of the irritable bowel syndrome - Reflections of today. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2019;40-41:101620.
48. Almonajjed MB, Wardeh M, Atlagh A, Ismaiel A, Popa SL, Rusu F, et al. Impact of Microbiota on Irritable Bowel Syndrome Pathogenesis and Management: A Narrative Review. *Med Kaunas Lith*. 2025;61(1):109.
49. Pimentel M, Lembo A. Microbiome and Its Role in Irritable Bowel Syndrome. *Dig Dis Sci*. 2020;65(3):829-39.
50. Porcari S, Ingrosso MR, Maida M, Eusebi LH, Black C, Gasbarrini A, et al. Prevalence of irritable bowel syndrome and functional dyspepsia after acute gastroenteritis: systematic review and meta-analysis. *Gut*. 2024;73(9):1431-40.
51. Barbara G, Cremon C, Carini G, Bellacosa L, Zecchi L, De Giorgio R, et al. The immune system in irritable bowel syndrome. *J Neurogastroenterol Motil*. 2011;17(4):349-59.

52. Farzaei MH, Bahramsoltani R, Abdollahi M, Rahimi R. The Role of Visceral Hypersensitivity in Irritable Bowel Syndrome: Pharmacological Targets and Novel Treatments. *J Neurogastroenterol Motil.* 2016;22(4):558-74.
53. Raahave D, Jensen AK. Increased colon transit time and faecal load in irritable bowel syndrome. *World J Gastrointest Pharmacol Ther.* 2021;12(1):13-20.
54. Huang Y, Zheng E, Hu M, Yang X, Lan Q, Yu Y, et al. The impact of depression-mediated gut microbiota composition on Irritable Bowel Syndrome: A Mendelian study. *J Affect Disord.* 2024;360:15-25.
55. Chato M, Li Y, Ma Z, Coote J, Du J, Chen X. Involvement of Corticotropin-Releasing Factor and Receptors in Immune Cells in Irritable Bowel Syndrome. *Front Endocrinol.* 2018;9:21.
56. Yuan Y, Wang X, Huang S, Wang H, Shen G. Low-level inflammation, immunity, and brain-gut axis in IBS: unraveling the complex relationships. *Gut Microbes.* 2023;15(2):2263209.
57. Mishima Y, Ishihara S. Enteric Microbiota-Mediated Serotonergic Signaling in Pathogenesis of Irritable Bowel Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2021;22(19).
58. Zhai L, Huang C, Ning Z, Zhang Y, Zhuang M, Yang W, et al. *Ruminococcus gnavus* plays a pathogenic role in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome by increasing serotonin biosynthesis. *Cell Host Microbe.* 2023;31(1):33-44.e5.
59. Zhang X, Jin WW, Wang HG. Correlation between the neuroendocrine axis, microbial species, inflammatory response, and gastrointestinal symptoms in irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol.* 2024;30(35):3985-95.
60. Hustoft TN, Hausken T, Ystad SO, Valeur J, Brokstad K, Hatlebakk JG, et al. Effects of varying dietary content of fermentable short-chain carbohydrates on symptoms, fecal microenvironment, and cytokine profiles in patients with irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil.* 2017;29(4).
61. van Lanen AS, de Bree A, Greyling A. Efficacy of a low-FODMAP diet in adult irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Nutr.* 2021;60(6):3505-22.
62. Kasti A, Petsis K, Lambrinou S, Katsas K, Nikolaki M, Papanikolaou IS, et al. A Combination of Mediterranean and Low-FODMAP Diets for Managing IBS Symptoms? Ask Your Gut! *Microorganisms.* 2022;10(4).
63. Zhan K, Zheng H, Li J, Wu H, Qin S, Luo L, et al. Gut Microbiota-Bile Acid Crosstalk in Diarrhea-Irritable Bowel Syndrome. *BioMed Res Int.* 2020;2020:3828249.

64. Wang L, Alammam N, Singh R, Nanavati J, Song Y, Chaudhary R, et al. Gut Microbial Dysbiosis in the Irritable Bowel Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis of Case-Control Studies. *J Acad Nutr Diet*. 2020;120(4):565-86.
65. Napolitano M, Fasulo E, Ungaro F, Massimino L, Sinagra E, Danese S, et al. Gut Dysbiosis in Irritable Bowel Syndrome: A Narrative Review on Correlation with Disease Subtypes and Novel Therapeutic Implications. *Microorganisms*. 2023;11(10).
66. Simon E, Călinoiu LF, Mitrea L, Vodnar DC. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: Implications and Beneficial Effects against Irritable Bowel Syndrome. *Nutrients*. 2021;13(6).
67. Mayer EA, Nance K, Chen S. The Gut-Brain Axis. *Annu Rev Med*. 2022;73:439-53.
68. Chen Y, Feng S, Li Y, Zhang C, Chao G, Zhang S. Gut microbiota and intestinal immunity-A crosstalk in irritable bowel syndrome. *Immunology*. 2024;172(1):1-20.
69. Kostiuchenko O, Lushnikova I, Skibo G. The role of gut microbiota metabolites in the regeneration and protection of nervous tissue: a narrative review. 2024;1:12-30.
70. Zhao Y, Zhu S, Dong Y, Xie T, Chai Z, Gao X, et al. The Role of Gut Microbiome in Irritable Bowel Syndrome: Implications for Clinical Therapeutics. *Biomolecules*. 2024;14(12).
71. Doifode T, Giridharan VV, Generoso JS, Bhatti G, Collodel A, Schulz PE, et al. The impact of the microbiota-gut-brain axis on Alzheimer's disease pathophysiology. *Pharmacol Res*. 2021;164:105314.
72. Li K, Ly K, Mehta S, Braithwaite A. Importance of crosstalk between the microbiota and the neuroimmune system for tissue homeostasis. *Clin Transl Immunol*. 2022;11(5):e1394.
73. Li ZY, Zhang N, Wen S, Zhang J, Sun XL, Fan XM, et al. Decreased glucagon-like peptide-1 correlates with abdominal pain in patients with constipation-predominant irritable bowel syndrome. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2017;41(4):459-65.
74. El-Salhy M, Hatlebakk JG, Hausken T. Possible role of peptide YY (PYY) in the pathophysiology of irritable bowel syndrome (IBS). *Neuropeptides*. 2020;79:101973.
75. Takakura W, Pimentel M. Small Intestinal Bacterial Overgrowth and Irritable Bowel Syndrome - An Update. *Front Psychiatry*. 2020;11:664.

76. Ghoshal U, Shukla R, Srivastava D, Ghoshal UC. Irritable Bowel Syndrome, Particularly the Constipation-Predominant Form, Involves an Increase in *Methanobrevibacter smithii*, Which Is Associated with Higher Methane Production. *Gut Liver*. 2016;10(6):932-8.
77. Grover M, Kashyap PC. Germ-free mice as a model to study effect of gut microbiota on host physiology. *Neurogastroenterol Motil*. 2014;26(6):745-8.
78. De Palma G, Lynch MDJ, Lu J, Dang VT, Deng Y, Jury J, et al. Transplantation of fecal microbiota from patients with irritable bowel syndrome alters gut function and behavior in recipient mice. *Sci Transl Med*. 2017;9(379):eaaf6397.
79. Mazzawi T, Hausken T, Hov JR, Valeur J, Sangnes DA, El-Salhy M, et al. Clinical response to fecal microbiota transplantation in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome is associated with normalization of fecal microbiota composition and short-chain fatty acid levels. *Scand J Gastroenterol*. 2019;54(6):690-9.
80. Johnsen PH, Hilpüsch F, Cavanagh JP, Leikanger IS, Kolstad C, Valle PC, et al. Faecal microbiota transplantation versus placebo for moderate-to-severe irritable bowel syndrome: a double-blind, randomised, placebo-controlled, parallel-group, single-centre trial. *Lancet Gastroenterol Hepatol*. 2018;3(1):17-24.
81. Wang M, Xie X, Zhao S, Ma X, Wang Z, Zhang Y. Fecal microbiota transplantation for irritable bowel syndrome: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Front Immunol*. 2023;14:1136343.
82. Xu D, Chen VL, Steiner CA, Berinstein JA, Eswaran S, Waljee AK, et al. Efficacy of Fecal Microbiota Transplantation in Irritable Bowel Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol*. 2019;114(7):1043-50.
83. Myneedu K, Deoker A, Schmulson MJ, Bashashati M. Fecal microbiota transplantation in irritable bowel syndrome: A systematic review and meta-analysis. *United Eur Gastroenterol J*. 2019;7(8):1033-41.
84. Matijašić M, Meštrović T, Paljetak HČ, Perić M, Barešić A, Verbanac D. Gut Microbiota beyond Bacteria-Mycobiome, Virome, Archaeome, and Eukaryotic Parasites in IBD. *Int J Mol Sci*. 2020;21(8).
85. Mishima Y, Ishihara S. Molecular Mechanisms of Microbiota-Mediated Pathology in Irritable Bowel Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22).
86. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The Human Microbiome Project. *Nature*. 2007;449(7164):804-10.
87. Li J, Jia H, Cai X, Zhong H, Feng Q, Sunagawa S, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nat Biotechnol*. 2014;32(8):834-41.

88. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J.* 2017;474(11):1823-36.
89. Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, Burgdorf KS, Manichanh C, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature.* 2010;464(7285):59-65.
90. Álvarez J, Fernández Real JM, Guarner F, Gueimonde M, Rodríguez JM, Saenz de Pipaon M, et al. Gut microbes and health. *Gastroenterol Hepatol.* 2021;44(7):519-35.
91. Van Hul M, Cani PD, Petitfils C, De Vos WM, Tilg H, El-Omar EM. What defines a healthy gut microbiome? *Gut.* 2024;73(11):1893-908.
92. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature.* 2011;473(7346):174-80.
93. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe.* 2015;17(5):690-703.
94. Codling C, O'Mahony L, Shanahan F, Quigley EMM, Marchesi JR. A molecular analysis of fecal and mucosal bacterial communities in irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci.* 2010;55(2):392-7.
95. Matsumoto H, Shiotani A, Katsumata R, Fukushima S, Handa Y, Osawa M, et al. Mucosa-Associated Microbiota in Patients with Irritable Bowel Syndrome: A Comparison of Subtypes. *Digestion.* 2021;102(1):49-56.
96. Choo C, Mahurkar-Joshi S, Dong TS, Lenhart A, Lagishetty V, Jacobs JP, et al. Colonic mucosal microbiota is associated with bowel habit subtype and abdominal pain in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2022;323(2):G134-43.
97. Drago L, Valentina C, Fabio P. Gut microbiota, dysbiosis and colon lavage. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver.* 2019;51(9):1209-13.
98. Tap J, Derrien M, Törnblom H, Brazeilles R, Cools-Portier S, Doré J, et al. Identification of an Intestinal Microbiota Signature Associated With Severity of Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology.* 2017;152(1):111-123.e8.
99. Duan R, Zhu S, Wang B, Duan L. Alterations of Gut Microbiota in Patients With Irritable Bowel Syndrome Based on 16S rRNA-Targeted Sequencing: A Systematic Review. *Clin Transl Gastroenterol.* 2019;10(2):e00012.

100. Teige ES, Sortvik U, Lied GA. A Systematic Review: Fecal Bacterial Profile in Patients with Irritable Bowel Syndrome Analyzed with the GA-Map Dysbiosis Test Based on the 16S rRNA Gene of Bacterial Species or Groups. *Clin Exp Gastroenterol*. 2024;17:109-20.
101. Su Q, Tun HM, Liu Q, Yeoh YK, Mak JWY, Chan FK, et al. Gut microbiome signatures reflect different subtypes of irritable bowel syndrome. *Gut Microbes*. 2023;15(1):2157697.
102. Kassinen A, Krogius-Kurikka L, Mäki vuokko H, Rinttilä T, Paulin L, Corander J, et al. The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology*. 2007;133(1):24-33.
103. Rajilić-Stojanović M, Biagi E, Heilig HGHJ, Kajander K, Kekkonen RA, Tims S, et al. Global and deep molecular analysis of microbiota signatures in fecal samples from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology*. 2011;141(5):1792-801.
104. Jeffery IB, O'Toole PW, Öhman L, Claesson MJ, Deane J, Quigley EMM, et al. An irritable bowel syndrome subtype defined by species-specific alterations in faecal microbiota. *Gut*. 2012;61(7):997-1006.
105. Ng QX, Yau CE, Yaow CYL, Chong RIH, Chong NZY, Teoh SE, et al. What Has Longitudinal «Omics» Studies Taught Us about Irritable Bowel Syndrome? A Systematic Review. *Metabolites*. 2023;13(4).
106. Jeffery IB, Das A, O'Herlihy E, Coughlan S, Cisek K, Moore M, et al. Differences in Fecal Microbiomes and Metabolomes of People With vs Without Irritable Bowel Syndrome and Bile Acid Malabsorption. *Gastroenterology*. 2020;158(4):1016-1028.e8.
107. Chen H, Ou R, Tang N, Su W, Yang R, Yu X, et al. Alternation of the gut microbiota in irritable bowel syndrome: an integrated analysis based on multicenter amplicon sequencing data. *J Transl Med*. 2023;21(1):117.
108. Zhuang X, Xiong L, Li L, Li M, Chen M. Alterations of gut microbiota in patients with irritable bowel syndrome: A systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2017;32(1):28-38.
109. Liu HN, Wu H, Chen YZ, Chen YJ, Shen XZ, Liu TT. Altered molecular signature of intestinal microbiota in irritable bowel syndrome patients compared with healthy controls: A systematic review and meta-analysis. *Dig Liver Dis Off J Ital Soc Gastroenterol Ital Assoc Study Liver*. 2017;49(4):331-7.
110. Agnello M, Carroll LN, Imam N, Pino R, Palmer C, Varas I, et al. Gut microbiome composition and risk factors in a large cross-sectional IBS cohort. *BMJ Open Gastroenterol*. 2020;7(1):e000345.

111. Lo Presti A, Zorzi F, Del Chierico F, Altomare A, Cocca S, Avola A, et al. Fecal and Mucosal Microbiota Profiling in Irritable Bowel Syndrome and Inflammatory Bowel Disease. *Front Microbiol.* 2019;10:1655.
112. Sadeghi A, Biglari M, Nasser Moghaddam S. Post-infectious Irritable Bowel Syndrome: A Narrative Review. *Middle East J Dig Dis.* 2019;11(2):69-75.
113. Singh P, Lembo A. Emerging Role of the Gut Microbiome in Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterol Clin North Am.* 2021;50(3):523-45.
114. Rangel I, Sundin J, Fuentes S, Repsilber D, de Vos WM, Brummer RJ. The relationship between faecal-associated and mucosal-associated microbiota in irritable bowel syndrome patients and healthy subjects. *Aliment Pharmacol Ther.* 2015;42(10):1211-21.
115. Maharshak N, Ringel Y, Katibian D, Lundqvist A, Sartor RB, Carroll IM, et al. Fecal and Mucosa-Associated Intestinal Microbiota in Patients with Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome. *Dig Dis Sci.* 2018;63(7):1890-9.
116. Vich Vila A, Imhann F, Collij V, Jankipersadsing SA, Gurry T, Mujagic Z, et al. Gut microbiota composition and functional changes in inflammatory bowel disease and irritable bowel syndrome. *Sci Transl Med.* 2018;10(472):eaap8914.
117. Cheng X, Ren C, Mei X, Jiang Y, Zhou Y. Gut microbiota and irritable bowel syndrome: status and prospect. *Front Med.* 2024;11:1429133.
118. Mazzawi T. Gut Microbiota Manipulation in Irritable Bowel Syndrome. *Microorganisms.* 2022;10(7).
119. Pittayanon R, Lau JT, Yuan Y, Leontiadis GI, Tse F, Surette M, et al. Gut Microbiota in Patients With Irritable Bowel Syndrome-A Systematic Review. *Gastroenterology.* 2019;157(1):97-108.
120. Wang Y, Ma W, Mehta R, Nguyen LH, Song M, Drew DA, et al. Diet and gut microbial associations in irritable bowel syndrome according to disease subtype. *Gut Microbes.* 2023;15(2):2262130.
121. Toor D, Wsson MK, Kumar P, Karthikeyan G, Kaushik NK, Goel C, et al. Dysbiosis Disrupts Gut Immune Homeostasis and Promotes Gastric Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019;20(10).
122. Surdea-Blaga, T. Microbiome in irritable bowel syndrome-An Update. *Microb Health Dis* 2024; 6 : e1017

123. Yao C, Li Y, Luo L, Xie F, Xiong Q, Li T, et al. Significant Differences in Gut Microbiota Between Irritable Bowel Syndrome with Diarrhea and Healthy Controls in Southwest China. *Dig Dis Sci*. 2023;68(1):106-27.
124. NICE. Overview | Irritable Bowel Syndrome in Adults: Diagnosis and Management | Guidance | NICE. Available at: <https://www.nice.org.uk/guidance/cg61> (2023).
125. Su GL, Ko CW, Bercik P, Falck-Ytter Y, Sultan S, Weizman AV, et al. AGA Clinical Practice Guidelines on the Role of Probiotics in the Management of Gastrointestinal Disorders. *Gastroenterology*. 2020;159(2):697-705.
126. Lacy BE, Pimentel M, Brenner DM, Chey WD, Keefer LA, Long MD, et al. ACG Clinical Guideline: Management of Irritable Bowel Syndrome. *Am J Gastroenterol*. 2021;116(1):17-44.
127. Preidis GA, Weizman AV, Kashyap PC, Morgan RL. AGA Technical Review on the Role of Probiotics in the Management of Gastrointestinal Disorders. *Gastroenterology*. 2020;159(2):708-738.e4.
128. Ishaque SM, Khosruzzaman SM, Ahmed DS, Sah MP. A randomized placebo-controlled clinical trial of a multi-strain probiotic formulation (Bio-Kult®) in the management of diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol*. 2018;18(1):71.
129. Pimentel M, Chang C, Chua KS, Mirocha J, DiBaise J, Rao S, et al. Antibiotic treatment of constipation-predominant irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci*. 2014;59(6):1278-85.
130. Rodicio M del R, Mendoza M del C. [Identification of bacteria through 16S rRNA sequencing: principles, methods and applications in clinical microbiology]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004;22(4):238-45.
131. Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, et al. Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(1):e1.
132. Salmeri N, Sinagra E, Dolci C, Buzzaccarini G, Sozzi G, Sutera M, et al. Microbiota in Irritable Bowel Syndrome and Endometriosis: Birds of a Feather Flock Together-A Review. *Microorganisms*. 2023;11(8).
133. Spiegel BMR, Bolus R, Agarwal N, Sayuk G, Harris LA, Lucak S, et al. Measuring symptoms in the irritable bowel syndrome: development of a framework for clinical trials. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010;32(10):1275-91.
134. Bolyen E, Rideout JR, Dillon MR, Bokulich NA, Abnet CC, Al-Ghalith GA, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol*. 2019;37(8):852-7.

135. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*. 2016;13(7):581-3.
136. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(Database issue):D590-596.
137. Lu Y, Zhou G, Ewald J, Pang Z, Shiri T, Xia J. MicrobiomeAnalyst 2.0: comprehensive statistical, functional and integrative analysis of microbiome data. *Nucleic Acids Res*. 2023;51(W1):W310-8.
138. Foster ZSL, Sharpton TJ, Grünwald NJ. Metacoder: An R package for visualization and manipulation of community taxonomic diversity data. *PLoS Comput Biol*. 2017;13(2):e1005404.
139. Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biol*. 2011;12(6):R60.
140. Feng K, Peng X, Zhang Z, Gu S, He Q, Shen W, et al. iNAP: An integrated network analysis pipeline for microbiome studies. *iMeta*. 2022;1(2):e13.
141. Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga NS, Wang JT, Ramage D, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res*. 2003;13(11):2498-504.
142. Chin CH, Chen SH, Wu HH, Ho CW, Ko MT, Lin CY. cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome. *BMC Syst Biol*. 2014;8 Suppl 4(Suppl 4):S11.
143. Carroll IM, Ringel-Kulka T, Siddle JP, Ringel Y. Alterations in composition and diversity of the intestinal microbiota in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil*. 2012;24(6):521-30, e248.
144. Mars RAT, Yang Y, Ward T, Houtti M, Priya S, Lekatz HR, et al. Longitudinal Multi-omics Reveals Subset-Specific Mechanisms Underlying Irritable Bowel Syndrome. *Cell*. 2020;182(6):1460-1473.e17.
145. Hollister EB, Cain KC, Shulman RJ, Jarrett ME, Burr RL, Ko C, et al. Relationships of Microbiome Markers With Extraintestinal, Psychological Distress and Gastrointestinal Symptoms, and Quality of Life in Women With Irritable Bowel Syndrome. *J Clin Gastroenterol*. 2020;54(2):175-83.
146. Fukui H, Nishida A, Matsuda S, Kira F, Watanabe S, Kuriyama M, et al. Usefulness of Machine Learning-Based Gut Microbiome Analysis for Identifying Patients with Irritable Bowels Syndrome. *J Clin Med*. 2020;9(8).

147. Lyra A, Rinttilä T, Nikkilä J, Krogius-Kurikka L, Kajander K, Malinen E, et al. Diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome distinguishable by 16S rRNA gene phylotype quantification. *World J Gastroenterol*. 2009;15(47):5936-45.
148. Labus JS, Hollister EB, Jacobs J, Kirbach K, Oezguen N, Gupta A, et al. Differences in gut microbial composition correlate with regional brain volumes in irritable bowel syndrome. *Microbiome*. 2017;5(1):49.
149. Aggeletopoulou I, Triantos C. Microbiome Shifts and Their Impact on Gut Physiology in Irritable Bowel Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2024;25(22).
150. Goodoory VC, Ford AC. Antibiotics and Probiotics for Irritable Bowel Syndrome. *Drugs*. 2023;83(8):687-99.
151. Shariati A, Fallah F, Pormohammad A, Taghipour A, Safari H, Chirani AS, et al. The possible role of bacteria, viruses, and parasites in initiation and exacerbation of irritable bowel syndrome. *J Cell Physiol*. 2019;234(6):8550-69.
152. Hyland NP, Quigley EMM, Brint E. Microbiota-host interactions in irritable bowel syndrome: epithelial barrier, immune regulation and brain-gut interactions. *World J Gastroenterol*. 2014;20(27):8859-66.
153. 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.
154. David LA, Maurice CF, Carmody RN, Gootenberg DB, Button JE, Wolfe BE, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. *Nature*. 2014;505(7484):559-63.

X – ANEXOS

X - ANEXOS

ANEXO 1. Dictamen Comité de Ética Hospital del Vinalopó 29/06/2022



DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

D. Antonio Martínez Lorente, Jefe de la Secretaría Técnica y D. Carlos Marqués Espí, Presidente del Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos de los Hospitales Universitarios Torrevieja y Elche-Vinalopó

CERTIFICAN:

Que este CEIm, en su reunión de fecha **29/06/2022** ha revisado la documentación aportada por el Promotor del estudio, ha decidido emitir:

DICTAMEN FAVORABLE

A la propuesta para que se realice el estudio:

Título completo del estudio: ESTUDIO CLÍNICO ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO Y CONTROLADO CON PLACEBO PARA EVALUAR EL EFECTO DE UNA MEZCLA PROBIÓTICA EN LOS SIGNOS Y SÍNTOMAS DEL SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE

Nº EudraCT: N/A Estudio con probióticos

Código del protocolo: SII.PROB

Nombre del promotor: Laboratorio Industrial de Herbodietética Aplicada, S.L.

Protocolo V 1.0 4 de mayo de 2022

Hoja de Información al paciente V 1.0 -----

Consentimiento Informado V 1.0 -----

Investigador Principal: Dra. María Isabel Pérez Soto

Servicio: Servicio de Medicina Interna

Centro: Hospital Universitario de Vinalopó

Además, hace constar que:

1. El estudio/proyecto/ensayo cumple los criterios establecidos en la Ley Orgánica 3/2018 de Protección de Datos Personales y Garantías de los Derechos Digitales, así como en el Reglamento (UE) 2016/679 Relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y la libre circulación de estos datos.
2. En dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente –Decreto 39/94 de la CAM– para que la decisión del citado CEIm sea válida.
3. El Estudio reúne las normas éticas estándar de nuestra Institución para la realización de este tipo de estudios.
4. Se cumplen los preceptos éticos formulados en el Real Decreto 957/2020, de 3 de noviembre de 2020, por el que se regulan los estudios observacionales con medicamentos de uso humano y la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa aplicable en función de las características del estudio.
5. Asimismo, hacemos constar que existe contraprestación económica para el centro y los investigadores.
6. Además, este comité recuerda al Promotor la obligación, en el caso de que se trate de un estudio prospectivo, de realizar el registro del estudio en una base de datos de acceso público antes de reclutar el primer paciente, así como el seguimiento del estudio de acuerdo a la legislación vigente.
7. Que el comité tanto en su composición como en sus PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95); con el RD 1090/2015 así como la normativa autonómica en materia de investigación aplicable de la Comunitat Valenciana; y su composición actual es la indicada en el Anexo I.
8. Consideraciones generales del estudio: NINGUNA

Lo que firmo en Elche, a 6 de julio de 2022.

CARLOS
DOMINGO
MARQUES
ESPI
Firmado digitalmente por CARLOS DOMINGO(MARQUES) ESPI Fecha: 2022.07.07 13:23:04 +02'00'

Carlos Marqués Espí

ANTONIO
MARTINEZ
LORENTE
Firmado digitalmente por ANTONIO(MARTINEZ)LORENTE Fecha: 2022.07.07 12:18:10 +02'00'

Antonio Martínez Lorente



Anexo I COMPOSICIÓN DEL CEIm

Presidente:

- Carlos Marqués Espí (Licenciado en Derecho. Miembro del Comité de Bioética)

Vicepresidente:

- Gonzalo Ros Cervera (Médico)

Secretario:

- Antonio Martínez Lorente (Médico)

Vocales:

- Angel Raso Raso (Farmacéutico Especialista Hospital)
- Joaquín Quiles (Miembro Lego no vinculado laboralmente a los centros)
- Ana Maestre Peiró (Médico)
- Jose Fernández de Maya (Enfermero)
- Angélica Valderrama Rodríguez (Farmacólogo Clínico)
- María Isabel Pérez Soto (Médico)
- María Angeles Antolinos García (Médico Atención Primaria)
- Lucía Ojea Cárdenas (Farmacéutico Especialista Atención Primaria)

Que en dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente. Que en el caso de evaluación de algún estudio del que algún integrante del equipo investigador forme parte de este CEIm, este se ausentará durante la deliberación y votación del mismo.

Anexo II CENTROS E INVESTIGADORES PRINCIPALES Y COLABORADORES

Título completo del estudio: ESTUDIO CLÍNICO ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO Y CONTROLADO CON PLACEBO PARA EVALUAR EL EFECTO DE UNA MEZCLA PROBIÓTICA EN LOS SIGNOS Y SÍNTOMAS DEL SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE

Nº EudraCT: N/A Estudio con probióticos

Código del protocolo: SII.PROB

Nombre del promotor: Laboratorio Industrial de Herbodietética Aplicada, S.L.

Protocolo V 1.0 4 de mayo de 2022

Hoja de Información al paciente V 1.0 -----

Consentimiento informado V 1.0 -----

Investigador Principal: Dra. María Isabel Pérez Soto

Servicio: Servicio de Medicina Interna

Centro: Hospital Universitario de Vinalopó

ANEXO 2. Dictamen Comité de Ética UCAM 28/04/2023



COMITÉ DE ÉTICA DE LA UCAM

DATOS DEL PROYECTO

Título:	"Estudio clínico aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo para evaluar el efecto de una mezcla probiótica en los signos y síntomas del síndrome de intestino irritable"	
Investigador Principal	Nombre	Correo-e
Dr.	Vicente Navarro López	vnavarro@ucam.edu

INFORME DEL COMITÉ

Fecha	28/04/2023
--------------	------------

Código	CE042306
---------------	----------

Tipo de Experimentación

Investigación experimental clínica con seres humanos	X
Investigación experimental no clínica con seres humanos	
Utilización de tejidos humanos procedentes de pacientes, personas sanas, tejidos embrionarios o fetales	X
Utilización de tejidos humanos, tejidos embrionarios o fetales procedentes de bancos de muestras o tejidos	
Investigación observacional, psicológica o comportamental en humanos	
Uso de datos personales, información genética, etc.	X
Experimentación animal	
Utilización de agentes biológicos de riesgo para la salud humana, animal o las plantas	
Uso de organismos modificados genéticamente (OMGs)	

Comentarios Respecto al Tipo de Experimentación

Nada Obsta

Comentarios Respecto a la Metodología de Experimentación

Nada Obsta





COMITÉ DE ÉTICA DE LA UCAM

Sugerencias al Investigador

A la vista de la solicitud de informe adjunto por el Investigador y de las recomendaciones anteriormente expuestas el dictamen del Comité es:

Emitir Informe Favorable	X
Emitir Informe Desfavorable	
Emitir Informe Favorable condicionado a Subsanación	
MOTIVACIÓN	
Incrementará conocimientos en su área	

Vº Bº El Presidente,

Fdo.: José Alberto Cánovas Sánchez



El Secretario,

Fdo.: José Alarcón Teruel

ANEXO 3. Dictamen Comité de Ética UCAM 29/04/2022



COMITÉ DE ÉTICA DE LA UCAM

DATOS DEL PROYECTO

Título:	"Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo para evaluar la eficacia de una bebida deportiva sobre la hidratación, la recuperación y el control de la glucemia tras el ejercicio aeróbico de alta intensidad"	
Investigador Principal	Nombre	Correo-e
Dr.	Vicente Navarro López	vnavarro@ucam.edu

INFORME DEL COMITÉ

Fecha	29/04/2022
--------------	------------

Código	CE042202
---------------	----------

Tipo de Experimentación

Investigación experimental clínica con seres humanos	X
Investigación experimental no clínica con seres humanos	
Utilización de tejidos humanos procedentes de pacientes, personas sanas, tejidos embrionarios o fetales	X
Utilización de tejidos humanos, tejidos embrionarios o fetales procedentes de bancos de muestras o tejidos	
Investigación observacional, psicológica o comportamental en humanos	
Uso de datos personales, información genética, etc.	X
Experimentación animal	
Utilización de agentes biológicos de riesgo para la salud humana, animal o las plantas	
Uso de organismos modificados genéticamente (OMGs)	

Comentarios Respecto al Tipo de Experimentación

Nada Obsta

Comentarios Respecto a la Metodología de Experimentación

Nada Obsta





COMITÉ DE ÉTICA DE LA UCAM

Sugerencias al Investigador

A la vista de la solicitud de informe adjunto por el Investigador y de las recomendaciones anteriormente expuestas el dictamen del Comité es:

Emitir Informe Favorable	☒
Emitir Informe Desfavorable	☐
Emitir Informe Favorable condicionado a Subsanación	☐
MOTIVACIÓN	
Incrementará conocimientos en su área	

Vº Bº El Presidente,

Fdo.: José Alberto Cánovas Sánchez



El Secretario,

Fdo.: José Alarcón Teruel

