

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

POSGRADO EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

***RELACIÓN DEL ESTRÉS OXIDANTE CON MARCADORES DE INFLAMACIÓN
EN SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE***

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

P R E S E N T A

BIÓL. EXP. ALIZON SUJEY MORALES GUZMÁN

Matrícula: 2212801139

sujey_alizon@hotmail.com

COMITÉ DE TUTORES

CODIRECTOR EXTERNO: DR. MAX JULIO SCHMULSON WASSERMAN

CODIRECTORA INTERNA: DRA. ADRIANA ALARCÓN AGUILAR

ASESOR EXTERNO: DR. ARMANDO LUNA LÓPEZ

JURADO

Presidente: Dr. Armando Luna López

Secretario: Dra. Mina Konigsberg Fainstein

Vocal: Dra. María del Refugio Denise Clavijo Cornejo.

Vocal: Dra. Elsa Cervantes Ríos

Iztapalapa, Ciudad de México, 14 de Septiembre 2023

"El Programa de Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, registro 001481, en el Nivel Consolidado, y cuenta con apoyo del mismo Consejo, clave DAFCYT-2003IMPTNNN0020".

Número de registro de la beca otorgada por CONACYT: 80340

Comité tutorial:

Director de Tesis: Dr. Max Julio Schmulson Wasserman, MD, FRF

Profesor Titular A de T.C., PRIDE D. Laboratorio de Hígado Páncreas y Motilidad (HIPAM), Unidad de Investigación en Medicina Experimental, Facultad de Medicina. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Correo electrónico: maxjulio@prodigy.net.mx

Co-directora Interno: Dra. Adriana Alarcón Aguilar

Profesor Investigador, Asociado Nivel D. T.C. Universidad Autónoma Metropolitana (UAM)-Iztapalapa. Departamento de Ciencias de la Salud. Laboratorio de Bioenergética y Envejecimiento Celular.

Correo electrónico: adyalagui@yahoo.com

Asesor externo: Dr. Armando Luna López

Investigador en Ciencias Médicas, Nivel E. Departamento de Investigación Básica. Instituto Nacional de Geriátría

Correo electrónico: allbioexp@yahoo.com

Declaración de originalidad

El (La) que suscribe Alizon Sujey Morales Guzmán, alumno (a) del posgrado Maestría en Biología Experimental, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autor(a) de la tesis o idónea comunicación de resultados titulada: "RELACIÓN DEL ESTRÉS OXIDANTE CON MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE",

Declaro que:

1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presento ante el H. Jurado para la obtención del grado de Maestra en Biología Experimental es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis o idónea comunicación de resultados no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoral y fuente correspondiente.
3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por la autoría y originalidad de la misma, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el 14 de Septiembre del 2023.

Atentamente



Alizon Sujey Morales Guzmán

Nombre y firma del alumno

Este documento debe ser firmado con tinta azul y debe anexarse copia en la tesis o idónea comunicación de resultados (tesina, reporte, etc.), el documento original será conservado por la Coordinación del Posgrado.

Los miembros del jurado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, abajo firmantes, aprobando la tesis titulada:

RELACIÓN DEL ESTRÉS OXIDANTE CON MARCADORES DE INFLAMACIÓN EN SÍNDROME DE INTESTINO IRRITABLE

Que presentó: **BIÓL. EXP. ALIZON SUJEY MORALES GUZMÁN**

El día 14 de Septiembre del 2023

Sinodales (Nombre, Adscripción y firma de cada uno)

1. Presidente: Dr. Armando Luna López. Investigador en Ciencias Médicas E. Departamento de Investigación Básica. Instituto Nacional de Geriátría (INGER).



2. Secretario: Dra. Mina Konigsberg Fainstein. Profesora investigadora C. Laboratorio de Bioenergética y Envejecimiento Celular. Depto, Ciencias de la Salud. UAMI.



3. Vocal: Dra. María del Refugio Denise Clavijo Cornejo. Investigadora en Ciencias Médicas C. División de Reumatología. Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra.



4. Vocal: Dra. Elsa Cervantes Ríos. Profesora investigadora C. Laboratorio de Biología Celular y Citometría de Flujo. Depto, Ciencias de la Salud. UAMI.



Resumen

El síndrome de Intestino Irritable (SII) es un trastorno de la interacción intestino-cerebro (TIIC) que se caracteriza por la presencia de dolor abdominal asociado con cambios del hábito intestinal. Con base en lo anterior, se clasifica en los subtipos con predominio en estreñimiento (SII-E), predominio de diarrea (SII-D), alternancia entre ambos patrones SII mixto (SII-M), y un grupo de pacientes que no puede clasificarse en ninguno de los patrones o SII no clasificable (SII-NC). Hasta el momento, el diagnóstico se establece mediante criterios basados en síntomas, denominados los Criterios de Roma, debido a que el SII al igual que los demás TIIC tienen una fisiopatología multifactorial incluyendo inflamación de bajo grado y alteraciones de la microbiota intestinal entre otros, pero no existe un Biomarcador diagnóstico para ellos. Recientemente hemos evaluado Biomarcadores de estrés oxidante (EO) en pacientes con SII, encontrando mayor concentración de malondialdehído (MDA) y glutatión oxidado (GSSG), y una disminución significativa en los niveles de glutatión reducido (GSH) y del cociente de GSH/GSSG en los pacientes con SII en comparación con los controles sanos, sin diferencias entre los subtipos con SII. Considerando lo anterior y la inflamación de bajo grado que ha sido reconocida en SII, en el presente estudio analizamos la relación entre estos dos factores. Específicamente, hemos confirmado la disminución de interleucinas antiinflamatorias (IL-10 y IL-4) y un aumento de interleucinas proinflamatorias (IL-6 y TNF- α) en pacientes con SII en comparación con controles, con una diferencia estadísticamente significativa. También evaluamos estas mismas interleucinas en cada subtipo de SII y encontramos una diferencia significativa entre SII-E y SII-D, dada por un aumento de TNF- α en SII-D. Al correlacionar estos hallazgos con el EO no encontramos ninguna correlación entre controles y pacientes con SII. Sin embargo, al realizar las correlaciones entre interleucinas y EO en cada subtipo, encontramos diferencias significativas y positivas en dos de los subtipos de SII. En SII-D observamos una correlación entre GSH e IL-4 y en SII-E observamos dos correlaciones, la primera dada por MDA e IL-4 y la segunda entre IL-10 y TNF- α , sugiriendo diferentes mecanismos fisiopatológicos en cada subtipo. Finalmente, evaluamos la expresión de los factores de transcripción factor nuclear kappa B (NF- κ B), factor nuclear eritroide 2 (Nrf2), y la subunidad catalítica de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) gp91, donde observamos una mayor expresión de NF- κ B y gp91 y una menor expresión de Nrf2 en pacientes con SII en comparación con los controles. En conclusión, los resultados demostraron que en SII existe una alteración de la homeostasis fisiológica del estado redox celular y la respuesta al estrés. La modulación de las vías de señalización de estos factores puede proporcionar un mejor enfoque en el mecanismo fisiopatológico del SII.

Abstract

Irritable Bowel Syndrome (IBS) is a disorder of gut-brain interaction (DGBI) characterized by the presence of abdominal pain associated with changes in bowel habits. Based on the above, it is classified into subtypes with a predominance of constipation (IBS-C), a predominance of diarrhea (IBS-D), the alternation between both patterns of mixed IBS (IBS-M), and a group of patients who cannot be classified in any of the patterns or IBS unsubtyped (IBS-U). Until now, the diagnosis is established by criteria based on symptoms, called the Rome Criteria, because IBS, like the other DGBI, has a multifactorial pathophysiology, including low-grade inflammation and alterations of the intestinal microbiota, among others, but there is no diagnostic Biomarker for them. We have recently evaluated oxidant stress (OS) biomarkers in IBS patients, finding a higher concentration of malondialdehyde (MDA) and oxidized glutathione (GSSG), and a significant decrease in reduced glutathione (GSH) levels and the GSH/GSSG ratio. in IBS patients compared with healthy controls, with no difference between IBS subtypes. Considering the above and the low-grade inflammation that has been recognized in IBS, in the present study we analyzed the relationship between these two factors. Specifically, we have confirmed a decrease in anti-inflammatory interleukins (IL-10 and IL-4) and an increase in pro-inflammatory interleukins (IL-6 and TNF- α) in IBS patients compared with controls, with a statistically significant difference. We also evaluated these same interleukins in each IBS subtype and found a significant difference between IBS-C and IBS-D, given by an increase in TNF- α in IBS-D. When correlating these findings with OS, we did not find any correlation between controls and patients with IBS. However, when performing the correlations between interleukins and OS in each subtype, we found significant and positive differences in two of the IBS subtypes. In IBS-D we observed a correlation between GSH and IL-4 and IBS-C, we observed two correlations, the first given by MDA and IL-4 and the second between IL-10 and TNF- α , suggesting different pathophysiological mechanisms in each subtype. Finally, we evaluated the expression of the transcription factors nuclear factor kappa B (NF- κ B), erythroid nuclear factor 2 (Nrf2), and the nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) catalytic subunit gp91, where we observed a higher expression of NF- κ B and gp91 and lower Nrf2 expression in IBS patients compared to controls. In conclusion, the results demonstrated that in IBS there is an alteration of the physiological homeostasis of the cellular redox state and the stress response. Modulation of signaling pathways by these factors may provide better insight into the pathophysiological mechanism of IBS.

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
1. Introducción General.....	10
1.1 Trastornos de la Interacción Intestino-Cerebro (TIIC).....	10
1.2 Síndrome de Intestino Irritable (SII).....	11
1.3 Subtipos del SII.....	13
1.4 Gravedad del SII.....	14
2. Activación del sistema inmune en SII.....	14
2.1 Papel de las interleucinas en la inflamación.....	17
2.2 Activación del factor de transcripción NF- κ B.....	20
2.3 Participación del factor de transcripción Nrf2 en SII.....	21
2.4 NADPH oxidasa.....	22
3. Relación entre inflamación y Estrés Oxidante en SII.....	24
4. Antecedentes.....	25
5. Justificación.....	26
6. Pregunta de investigación.....	26
7. Objetivo general.....	26
8. Objetivos específicos.....	27
9. Hipótesis.....	27
10. Material y métodos.....	27
10.1 Sujetos de estudio.....	27
10.2 Obtención y procesamiento de muestras.....	29
10.3 Cuantificación de proteínas.....	29

10.4	Medición de los niveles séricos de citocinas mediante inmunoensayo.....	29
10.5	Western blot.....	30
10.6	Diseño experimental.....	31
10.7	Análisis de datos.....	32
11.	Resultados.....	32
11.1	Características de los pacientes con SII.....	32
11.2	Determinación de interleucinas anti-inflamatorias e inflamatorias.....	33
11.3	Interleucinas anti-inflamatorias e inflamatoria según subtipos de SII.....	35
11.4	Correlación entre EO y Interleucinas.....	36
11.5	Concentración de Interleucinas en los diferentes niveles de gravedad de SII.....	37
11.6	Expresión del factor de transcripción NF- κ B.....	38
11.7	Expresión del factor de transcripción Nrf2.....	39
11.8	Expresión de NADPH oxidasa.....	40
12.	Discusión.....	40
13.	Conclusión.....	46
14.	Perspectivas.....	47
15.	Anexos.....	48
16.	Referencias.....	51

1. Introducción General

1.1 Trastornos de la Interacción Intestino-Cerebro (TIIC)

Los trastornos funcionales gastrointestinales (TFGI), ahora definidos como trastornos de la interacción intestino-cerebro (TIIC), son los trastornos más comunes que se encuentran en la clínica gastroenterológica. Aproximadamente el 50% de los síntomas gastrointestinales (GI) crónicos en la atención primaria se pueden atribuir a TIIC, lo cual es importante para la salud pública porque pueden ser incapacitantes e inducir una gran carga social y económica (Black et al., 2020). Los TIIC son heterogéneos con respecto a la cantidad de síntomas, se caracterizan por no tener una base estructural que explique sus características clínicas, y la comprensión de estos trastornos se adhiere a un modelo biopsicosocial. Los síntomas se generan con base en una interacción compleja entre factores como la disbiosis microbiana, la función inmune, inflamación de bajo grado de la mucosa, permeabilidad intestinal incrementada, hipersensibilidad visceral y la desregulación del sistema nervioso central (SNC) en la modulación de la señalización intestinal y la función motora (Burns et al., 2021). Los TIIC se separan de los síntomas gastrointestinales cotidianos en función de los datos de frecuencia que determina la anormalidad. A lo largo de los años, la Fundación Roma ha generado definiciones consensuadas para los TIIC y ha generado criterios diagnósticos, basados en diversos patrones de síntomas, que han evolucionado a lo largo de los años desde los iniciales Criterios de Roma I, hasta los más recientes Criterios de Roma IV (Hellström & Benno, 2019). Estos criterios son un trabajo en progreso y las diferentes versiones han sido modificadas con base en la evidencia científica disponible. De hecho, actualmente se encuentran en

proceso de actualización para Roma IV que deberá ser publicada en el año 2026. Al determinar las frecuencias anormales, se ha creado un cuestionario de diagnóstico que se puede utilizar para identificar a los pacientes con TIIC para la investigación clínica (Drossman & Hasler, 2016).

Los TIIC siempre han estado presentes en la sociedad, sin embargo, solo en las últimas décadas se han estudiado científicamente para tratar de determinar los mecanismos subyacentes, han sido bien categorizados. Sin embargo, debido a la complejidad de los mismos y la etiología multifactorial, no existen Biomarcadores diagnósticos ni tratamientos universalmente efectivos para todos los pacientes. Dentro de los TIIC, el SII es el más estudiado, siendo la primera causa de consulta al Gastroenterólogo y entre los diez primeros motivos de consulta al médico general (Schmulson & Drossman, 2017).

1.2 Síndrome de Intestino Irritable (SII)

El SII es altamente prevalente en todo el mundo, afecta considerablemente la calidad de vida (QoL) de los pacientes que los padecen e impone una gran carga económica a los mismos, así como a los sistemas de salud (Gralnek et al., 2000). El reciente Estudio Epidemiológico Global de la Fundación de Roma llevado a cabo en población general, ha encontrado una prevalencia global del 4.1 % (Intervalo de Confianza del 95% [IC 95%]: 3.9-4.2), y del 4.0% (IC 95%: 3.2-4.9) en México (Sperber et al., 2021). El SII se caracteriza por dolor abdominal asociado con cambios del hábito intestinal. El diagnóstico de SII no se confirma mediante una prueba específica o anomalías estructurales (Biomarcadores), sino se realiza utilizando criterios basados en síntomas clínicos como los criterios de Roma, cuya más reciente versión corresponde a los Criterios de Roma IV. (Schmulson & Drossman, 2017).

Describir los mecanismos fisiopatológicos del SII que explican los síntomas del paciente ayuda para validar los síntomas y poder desarrollar tratamientos específicos. En presencia de síntomas de alarma (por ejemplo, anemia y pérdida de peso) o síntomas atípicos que no son compatibles con el SII, es importante para excluir otras causas como enfermedades orgánicas que pueden tener las mismas manifestaciones, como enfermedad inflamatoria intestinal (Enfermedad de Crohn, o Colitis Ulcerosa Crónica Idiopática [CUCI]), enfermedad celíaca, o enfermedades malignas como cáncer de colon (Cash et al., 2011). Se han propuesto diversos mecanismos y teorías sobre la etiología del SII, pero el modelo biopsicosocial es el más aceptado actualmente. El complejo de síntomas sería el resultado de la interacción entre factores psicológicos, conductuales, psicosociales y ambientales. Estos factores se asocian con inflamación de bajo grado en la mucosa intestinal dada por un incremento en el número de linfocitos intraepiteliales, mastocitos y células enterocromafines, esto sin dejar a un lado que se han descrito alteraciones en la inmunidad a nivel periférico (Ford & Talley, 2011). Además, alteraciones en la microbiota o la sobrepoblación bacteriana en el intestino (disbiosis) que pueden incrementar la permeabilidad intestinal y activar mecanismos inmunológicos de la submucosa, que a su vez podría llevar a una inflamación de bajo grado (Rodríguez-Fandiño et al., 2017). Todo lo anterior, puede además desencadenar alteraciones de la motilidad intestinal y de la sensibilidad visceral (Figura 1).

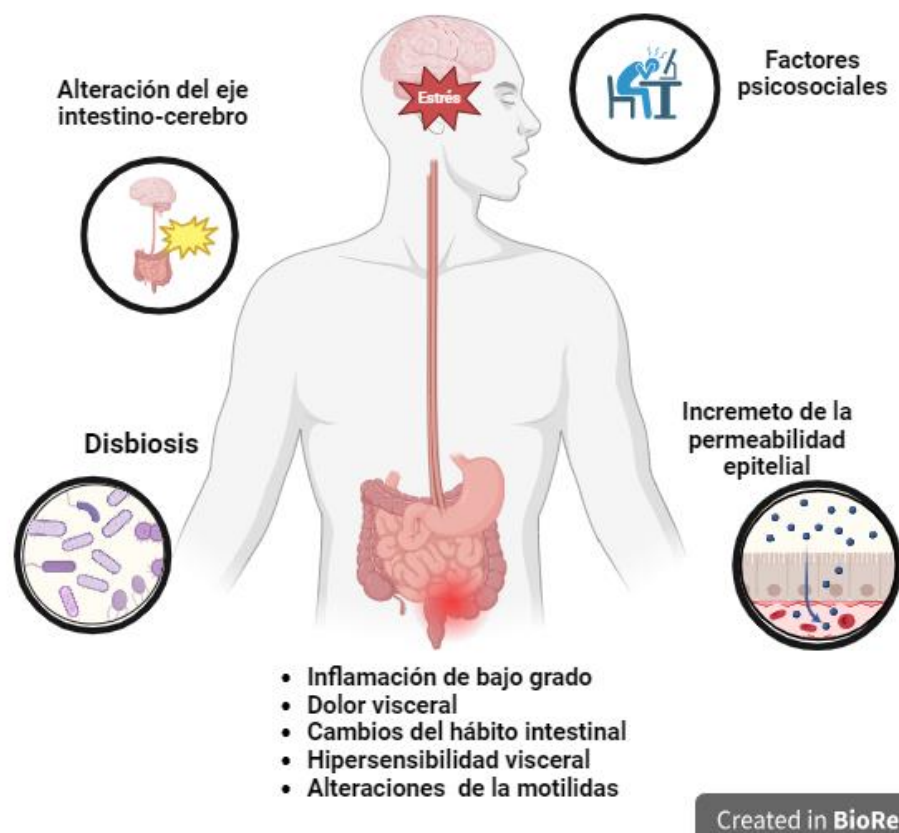


Figura 1. Multifactoriedad del SII. Principales mecanismos fisiopatológicos del SII: desregulación del eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal (HPA), disbiosis intestinal, incremento de la permeabilidad intestinal, estrés psicológico. Adaptado de Vanuytsel, 2023

1.3 Subtipos del SII

El SII se considera un trastorno crónico doloroso del intestino, que se asocia con un hábito intestinal alterado. Con base en dichas alteraciones del hábito intestinal predominante y según los más recientes criterios de Roma IV, y con la ayuda de la escala de Bristol, el SII se puede clasificar en varios subtipos: SII con estreñimiento (SII-E); SII con diarrea (SII-D); SII mixto (SII-M) y SII no clasificable (SII-NC) (Drossman & Hasler, 2016). Este proceso de clasificación es útil para que los médicos puedan establecer el tratamiento adecuado que se adapte específicamente al subtipo diagnosticado.

1.4 Gravedad del SII

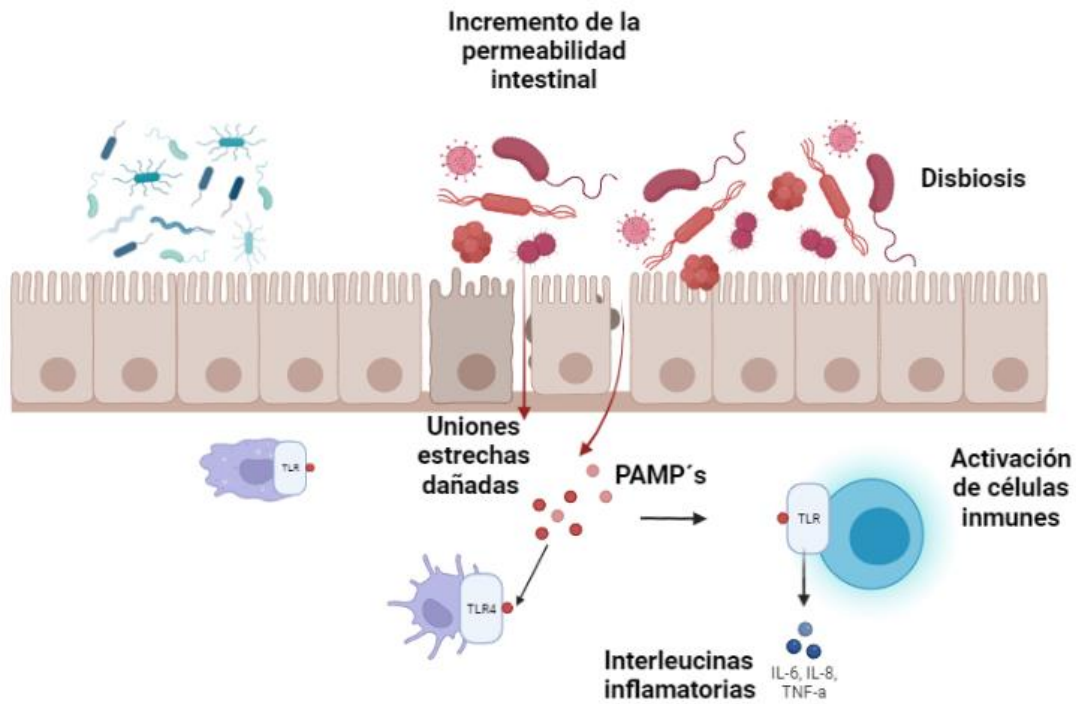
La gravedad del SII es un concepto importante que tiene este trastorno, pero no existe un consenso sobre su definición. En este sentido la Fundación de Roma que establece los criterios para todos los TIIC, estableció un Grupo de Trabajo sobre las Gravedad del SII que definió a esta característica como “un compuesto biopsicosocial reportado por los pacientes que incluyen síntomas gastrointestinales, extraintestinales, el grado de discapacidad, así como la precepción y conductas relacionadas con la enfermedad” (Drossman et al., 2011). El impacto de los factores centrales se manifiesta con alteraciones psicosociales, comorbilidades y mayor frecuencia de síntomas. Con base a los anterior, dicho Grupo de Trabajo ha estimado que la gravedad de los pacientes de acuerdo con la interferencia de los síntomas en la vida cotidiana. Por otra parte, hasta el momento el instrumento *Irritable Bowel Syndrome Severity Scoring System* (IBS-SSS, por sus siglas en inglés) es el más aceptado para clasificar la gravedad de los pacientes, sin embargo, este instrumento se usa más en estudios clínicos (Francis et al., 1997). En la clínica, se le pregunta al paciente que defina que tanto interfieren sus síntomas sobre su vida cotidiana (trabajo, escuela) y sobre la diversión; el paciente lo define como leve moderado o grave.

2. Activación del sistema inmune en SII

El SII es un trastorno multifactorial en el que diferentes factores pueden contribuir a su desarrollo y manifestaciones. Se considera que hay una interacción compleja entre factores centrales (psicológicos y emocionales) y factores lumbinales (disbiosis), que desencadenan una respuesta inmune alterada (O. Rodríguez-Fandiño et al., 2010). Esto último ha cobrado especial interés en los últimos años (Aguilera-Lizarraga et al., 2022).

El sistema inmune es un componente esencial del organismo que ha evolucionado para proteger al huésped de diversas amenazas tanto del entorno externo circundante como de peligros internos. Los receptores tipo Toll (TLR) son una parte importante del sistema inmune innato y juegan un papel crucial en el reconocimiento de diferentes patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Cuando los TLR detectan la presencia de PAMPs, activan una cascada de señalización que conduce a una respuesta proinflamatoria, atrayendo y activando células del sistema inmune para combatir y eliminar a los patógenos invasores (Figura 2). Sin embargo, también es importante mantener un equilibrio en la activación del sistema inmune, ya que una sobreestimulación prolongada de la respuesta inmunitaria puede contribuir a la inflamación crónica y a enfermedades autoinmunes. En el contexto del SII, puede contribuir a la generación del SII o a la exacerbación de los síntomas (Takeuchi & Akira, 2010). En SII, se ha investigado la implicación de los TLR y la activación del sistema inmune (McKernan et al., 2011) (Krammer et al., 2019) en la inflamación de bajo grado y los síntomas asociados. Aunque se necesita más investigación para comprender completamente esta asociación.

La estimulación de los TLR con PAMP's se ha relacionado con una mayor producción de factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina (IL)-1 β , IL-6 e IL-8 en células mononucleares de sangre periférica (O. Rodríguez-Fandiño et al., 2013).



Created in BioRender.com

Figura 2. Activación del sistema inmune en SII. Los PAMP's derivados de la disbiosis atraviesan la barrera intestinal alterada. Estos antígenos activan células del sistema inmune y esto contribuye a la activación de células del sistema inmune y por consiguiente a la liberación de citocinas inflamatorias.

La barrera intestinal es un sistema complejo que, entre otras funciones, limita el acceso de antígenos luminales al medio interno. Las células epiteliales están unidas entre sí por tres conjuntos de uniones intercelulares: uniones estrechas, uniones adherentes y desmosomas, formando el complejo de unión apical (Odenwald & Turner, 2017). Los productos luminales pueden cruzar esta barrera a través de espacios intercelulares entre las células epiteliales (vía paracelular) o a través de la membrana plasmática (vía transcelular). El epitelio intestinal también produce mediadores inmunes y, por lo tanto,

puede traducir las señales ambientales al sistema inmunológico (Figura 2) (Hammad & Lambrecht, 2015). Sin embargo, no se ha investigado a fondo si la disfunción de la barrera es una causa o consecuencia en pacientes con SII y los mecanismos subyacentes involucrados.

2.1 Papel de las interleucinas en la inflamación

La inflamación es una respuesta natural del sistema inmunológico del cuerpo a una lesión, infección o irritación. Es un mecanismo de defensa importante que ayuda al cuerpo a combatir microorganismos invasores, reparar tejidos dañados y promover la curación. La inflamación puede ser una respuesta aguda o crónica, y en algunos casos, la inflamación puede limitar la función de la zona afectada (Medzhitov, et al.). Por otro lado, en los últimos años se ha dado a conocer un nuevo término de inflamación, que es la inflamación de bajo grado. La inflamación de bajo grado, también conocida como inflamación crónica de bajo grado, se refiere a una respuesta inflamatoria que persiste en el cuerpo durante un periodo prolongado de tiempo, pero a niveles más bajos en comparación con la inflamación aguda. A diferencia de la inflamación aguda, que es una respuesta temporal a una lesión o infección, la inflamación crónica de bajo grado es una respuesta sostenida y de baja intensidad que puede ser perjudicial para la salud a largo plazo. Algunos hallazgos de investigación han reportado que los pacientes con SII presentan inflamación de bajo grado. La inflamación de bajo grado en el SII no se asocia con cambios estructurales visibles en el intestino, como los que se encuentran en enfermedades inflamatorias intestinales como la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa. En lugar de ello, implica una respuesta inflamatoria a nivel celular o molecular

que puede estar relacionada con la activación excesiva del sistema inmunológico o con cambios en la microbiota intestinal (M. Schmulson & Chey, 2012). Una de las moléculas de gran importancia que participan durante la inflamación son las citocinas.

Las citocinas son proteínas de bajo peso molecular que desempeñan un papel fundamental en la comunicación y coordinación de las respuestas celulares dentro del sistema inmune y en otros sistemas del cuerpo. Estas proteínas son secretadas por diversas células del sistema inmune y están implicadas en la regulación de la inflamación, la inmunidad y otros procesos fisiológicos. Las citocinas pueden clasificarse en diferentes categorías según diferentes criterios. Ejemplo, según el tipo de célula que secreta la citocina o la propiedad: quimiocinas (citocinas con propiedad quimiotáctica), interleucinas (citocinas secretadas por leucocitos que actúan sobre otros leucocitos, regulando así la respuesta inmune), linfocinas (citocinas secretadas por linfocitos), etc. (Chauhan et al., 2021). Dependiendo de su función, las citocinas también pueden ser clasificadas como proinflamatorias o antiinflamatorias. Las interleucinas proinflamatorias, incluidas la IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α e interferones, entre otras, promueven la inflamación y estimulan la respuesta de las células inmunitarias. Son esenciales para la defensa del cuerpo contra infecciones y para iniciar respuesta inmunitaria apropiadas. Por el contrario, las interleucinas antiinflamatorias como IL-4, IL-10, IL-11, IL-13, antagonistas del receptor IL-1 y TGF- β , actúan para reducir o inhibir la inflamación y ayudan a suprimir las respuestas inmunitarias excesivas, evitando así daños innecesarios en los tejidos. El equilibrio entre las interleucinas proinflamatorias y antiinflamatorias es esencial para una respuesta inmune adecuada y una resolución

adecuada de la inflamación. La desregulación en este equilibrio puede contribuir a diversas enfermedades inflamatorias y autoinmunes (Chauhan et al., 2021).

La resolución de la inflamación es un proceso natural del cuerpo que se produce después de que se ha desencadenado una respuesta inflamatoria. Este proceso es esencial para limitar el daño tisular y promover la curación. La resolución de la inflamación implica la eliminación de las células inflamatorias y la restauración de la función normal de los tejidos afectados. Durante la resolución, se reduce la producción de citocinas y otros mediadores inflamatorios, lo que disminuye la respuesta inflamatoria. Esto ayuda a prevenir la inflamación crónica y el daño continuo a los tejidos.

El sistema inmune gastrointestinal normal está bajo una estricta regulación y equilibrio de citocinas y otros mediadores inflamatorios y antiinflamatorios. Este equilibrio es fundamental para mantener la función intestinal normal. Sin embargo, el aumento de interleucinas proinflamatorias puede contribuir a la inflamación y la sensibilización visceral, lo que conducen a los síntomas característicos del SII (Kumar et al., 2022), como el dolor abdominal y las alteraciones en el hábito intestinal. Al mismo tiempo, la disminución de interleucinas antiinflamatorias puede resultar en una menor capacidad del sistema inmune para controlar y regular la inflamación, lo que también contribuirá al desarrollo y mantenimiento de los síntomas del SII. El estudio de las citocinas y su papel en la activación del sistema inmune es de suma importancia para comprender la fisiopatología del SII. Se ha sugerido que un desequilibrio entre las interleucinas proinflamatorias y antiinflamatorias desempeña un papel clave en la patogénesis del SII (Bashashati et al., 2012). Este desequilibrio puede ser el resultado de variantes genéticas ya que las interleucinas se encuentran genéticamente determinadas. Por ejemplo, un

estudio realizado con estudiantes de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, encontró que la frecuencia de los polimorfismos de IL-10 (-1082G/A) y TNF- α (-308G/A) fue similar en pacientes con SII y controles. Sin embargo, al analizar los polimorfismos por subtipos de SII, se observaron diferencias con disminución del genotipo alto productor de IL-10 y aumento del alto productor de TNF- α , especialmente en pacientes con SII-D. Esto sugiere una predisposición genética a la regulación inmune anormal ocasionado a un menor componente antiinflamatorio en este subtipo (M. Schmulson et al., 2013). Las interleucinas juegan un papel fundamental en la comunicación entre las células de la inmunidad, ya que pueden activar el sistema inmunológico y ocasionar un proceso inflamatorio. Algunas de las interleucinas inflamatorias cuya expresión está regulada por el factor nuclear kappa B (NF- κ B). De esta manera, la activación de NF- κ B juega un papel central en la respuesta inflamatoria e inmunológica.

2.2 Activación del factor de transcripción NF- κ B

NF- κ B (factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B) es un factor de transcripción que se encuentra inactivo en el citosol de las células, unido a proteínas inhibidoras como I κ B cinasa (I κ B). En condiciones normales, NF- κ B esta inactivo debido a su interacción con estas proteínas inhibidoras. Sin embargo, cuando la célula recibe ciertos estímulos, como la presencia de moléculas proinflamatorias, infecciones, estrés oxidante, entre otros, se desencadena una cascada de señalización que lleva a la activación de cinasa I κ B (IKK). La activación de IKK provoca la fosforilación de las proteínas inhibidoras (I κ B), lo que marca estas proteínas para su posterior degradación en el proteosoma. Como resultado de esta degradación, los dímeros de NF- κ B (normalmente p50 y p65) se liberan y se translocan al núcleo de la

célula (Mitchell et al., 2016). De tal forma, NF- κ B regula la transcripción de genes implicados en la respuesta inflamatoria, lo que resulta en un aumento de IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α . (Hayden & Ghosh, 2014).

La activación de NF- κ B es un mecanismo esencial para la respuesta inflamatoria y defensa del organismo frente a diversos estímulos patológicos o estresantes. Sin embargo, cuando esta activación se produce de manera crónica o desregulada, puede contribuir a la inflamación crónica, la patogénesis de enfermedades autoinmunitarias y otros trastornos inflamatorios (Sun, 2017). Por lo tanto, el equilibrio adecuado en la activación de NF- κ B es esencial para el mantenimiento de la homeostasis y la salud del organismo. Se han investigado las vías de señalización de NF- κ B en el colon distal en un modelo en ratas con SII-D inducido con ácido acético. El estudio mostró una disminución significativa en la expresión de la subunidad activa de NF- κ B, y la fosforilación de NF- κ B, en el grupo tratado con un regulador de la función gastrointestinal denominado Tong-Xie-Yao-Fang (TXYF). Los datos anteriores sugieren que TXYF actúa como un inhibidor de la cascada inflamatoria y la vía de señalización del factor NF- κ B (Hou et al., 2019).

2.3 Participación del factor de transcripción Nrf2 en SII

El factor de transcripción factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2 (Nrf2), es un regulador clave de la respuesta antioxidante y de la defensa contra el estrés oxidante. Juega un papel crítico en el mantenimiento del equilibrio redox celular y en la protección contra el daño causado por las especies reactivas de oxígeno (ERO). En condiciones “normales”, sin estrés, Nrf2 está secuestrado en el citoplasma por *kelch-like ECH associated protein 1* (Keap1, por sus siglas en inglés), lo que facilita su ubiquitinación y

posterior degradación (Canning et al., 2015). Lo anterior, el control primario de su función consiste principalmente en su disposición subcelular, más que en la síntesis de novo. Esta interacción mantiene una baja expresión basal de genes regulados por Nrf2. Tras el reconocimiento de señales químicas impartidas por moléculas oxidativas, Nrf2 se libera de Keap1, escapa de la degradación proteómica, se transloca al núcleo, y regula la expresión de genes de enzimas antioxidantes mediante la unión a una secuencia de ADN conocida como “*Antioxidant Response Element*” (ARE, por sus siglas en inglés). Estos genes incluyen glutatión S-transferasa (GST), glutatión peroxidasa (GPx), y la superóxido dismutasa (SOD) (Fainstein & Fainstein, 2007). Estas enzimas actúan para neutralizar y eliminar las ERO, protegiendo así al organismo del daño oxidante. Además, se ha demostrado que Nrf2 desempeña un papel crucial en la regulación cruzada con NF- κ B. Nrf2 interviene en la regulación negativa de NF- κ B, al unirse en la proximidad de los genes proinflamatorios de su región promotora y prevenir el reclutamiento de la ARN polimerasa II. Las propiedades antiinflamatorias de Nrf2 demostraron ser independientes de su actividad redox. Los factores de transcripción Nrf2 y NF- κ B muestran una relación antagónica. La subunidad p65 de NF- κ B regula negativamente la activación transcripcional de Nrf2 directa e indirectamente al interactuar con Keap 1. La interacción entre Nrf2 y NF- κ B es fundamental para mantener la homeostasis fisiológica del estado redox y regular la respuesta al estrés y la inflamación (Piotrowska et al., 2021; Zeng et al., 2018).

2.4 NADPH oxidasa

La NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) oxidasa es una enzima transmembrana que se encuentra en diversas células del sistema inmune. Su función

principal es generar ERO, tales como el anión superóxido (O_2^-), mediante la transferencia de electrones de NADPH al oxígeno molecular (O_2) (Brandes et al., 2014). La NADPH oxidasa es un complejo enzimático multiproteico conformado por 5 subunidades y la GTPasa Rac, con un núcleo catalítico denominado flavocitocromo b558, compuesto por 2 proteína transmembrana: p22^{phox} y gp91^{phox} (renombrado NOX2) y 3 subunidades citosólicas (p40^{phox}, p47^{phox}, p67^{phox}). NOX2 está normalmente inactivo en las células fagocíticas que están en reposo, pero tras estimulación leucocitaria, las subunidades citosólicas y la GTPasa Rac pequeña se ensamblan con el flavocitocromo b558 con el fin de hacer un complejo funcional. La gp91 es la unidad catalítica encargada de transferir electrones del NADPH citosólico al O_2 produciendo O_2^- (Panday et al., 2015). La producción de ERO a través de la NADPH es un mecanismo importante de defensa microbiana. Cuando el sistema inmune detecta la presencia de patógenos, como bacterias u hongos, las células fagocíticas, activan la NADPH oxidasa para generar ERO en el interior de las vacuolas fagocíticas. Las ERO son tóxicas para los macroorganismos y ayudan a destruirlos, contribuyendo así a la respuesta inmune contra las infecciones.

Una activación desregulada o excesiva de esta enzima y la producción de ERO pueden contribuir a la inflamación crónica y a la patogénesis de enfermedades relacionadas con el estrés oxidante. Por lo tanto, el equilibrio adecuado en la actividad de la NADPH oxidasa es fundamental para el mantenimiento de la homeostasis redox, que es mantener un punto medio entre los procesos de oxidación y reducción y la salud celular, de lo contrario, la mala regulación de la enzima NADPH puede generar estrés oxidante (EO).

Por otro lado, diversos estudios han demostrado que NADPH puede influir en la gravedad de la inflamación de bajo grado y en la composición bacteriana en el colon (Herfindal et al., 2022; Trevelin et al., 2020).

3.Relación entre inflamación y Estrés Oxidante en SII

El EO se considera un posible factor etiológico y/o desencadenante para el desarrollo de la inflamación en el intestino grueso. El EO se define como la falta de equilibrio entre las ERO y la capacidad del organismo para contrarrestar su acción por los sistemas de protección antioxidante. La sobreproducción de ERO puede provocar la oxidación de moléculas biológicas que incluyen ADN, lípidos y proteínas causando modificaciones oxidantes en su estructura. Las defensas antioxidantes también son afectadas por el aumento de ERO, lo que provoca daño celular (Choghakhori et al., 2017; Mete et al., 2013). El EO y la inflamación están regulados por las vías de señalización de los factores, Nrf2 y NF- κ B (Abais et al., 2015).

La inflamación se define como una respuesta protectora del cuerpo para garantizar la eliminación de estímulos perjudiciales, así como un proceso de curación para reparar el daño en el tejido. Es bien sabido que existe una relación entre la inflamación, la activación del sistema inmune y la generación de ERO. Las ERO incluyen ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y radical hidroxilo ($\cdot OH$), todos los cuales tienen propiedades químicas inherentes que confieren reactividad a diferentes objetivos biológicos. Las ERO funcionan como moléculas de señalización que regulan el crecimiento celular, diferenciación, senescencia y apoptosis. El aumento de los niveles de ERO dentro de las células inmunes puede resultar en la hiperactivación de las respuestas inflamatorias que resultan en daño tisular y patología (Mittal et al., 2014). Una de las principales fuentes de

generación de ERO es el complejo enzimático NADPH oxidasa, es uno de los principales mecanismos inmunes innatos con el que cuenta el organismo, cuya función es generar ERO encargadas de destruir a los gérmenes fagocitados, durante el proceso de estallido respiratorio de las células fagocíticas (Abais et al., 2015). En el contexto de SII, algunos estudios han demostrado que puede haber un desequilibrio entre las ERO y el sistema antioxidante, lo que lleva a un aumento de la peroxidación de lípidos y al daño de las células intestinales (Choghakhori et al., 2017; Mete et al., 2013) . Esto, a su vez, podría contribuir a la inflamación, lo que puede resultar en los síntomas característicos del SII.

4. Antecedentes

Como se mencionó anteriormente, en el SII existe una inflamación de bajo grado y se conoce que la inflamación se asocia con EO. Por otro lado, el EO ha sido muy estudiado en condiciones inflamatorias, en las cuales conduce a la apertura de las uniones endoteliales y promueve la migración de las células inflamatorias a través de la barrera endotelial. Un estudio recientemente realizado en nuestro Laboratorio, donde evaluamos distintos biomarcadores de EO en sangre periférica de pacientes con SII moderado a grave, mostró mayor concentración de malondialdehído (MDA) y glutatión oxidado (GSSG), y una disminución significativa en los niveles de glutatión reducido (GSH) y del cociente de GSH/GSSG en los pacientes con SII en comparación con los controles sanos (Morales et al., 2020). Estos hallazgos fueron independientes del subtipo de SII. Los resultados sugieren que los pacientes con SII moderado a grave presentan mayores niveles de EO, apoyando el uso de estos biomarcadores en el diagnóstico del SII y potencialmente, en el tratamiento.

5. Justificación

El SII es altamente prevalente en México y a nivel mundial, reduce significativamente la calidad de vida de los pacientes y produce una carga significativa a los sistemas de atención médica. Además, no existe un método objetivo de detección clínica ni un tratamiento universalmente efectivo para todos los pacientes, probablemente debido a su multifactoriedad. Entre los mecanismos subyacentes se han descrito la activación inmune, inflamación de bajo grado, y el EO. Sin embargo, la relación de estos factores no ha sido bien esclarecida. Por tal motivo, es importante dilucidar estos procesos moleculares que, con la intención de encontrar biomarcadores basados en las alteraciones fisiopatológicas subyacentes en los pacientes, y así poder individualizar el tratamiento.

6. Pregunta de investigación

¿Cuáles son los procesos moleculares que participan en la regulación de la inflamación y el EO en SII vs. controles sanos, entre los diferentes subtipos de SII, y de acuerdo con la gravedad del mismo?

7. Objetivo general

- Evaluar los procesos moleculares relacionados con la inflamación y el estrés oxidante, en pacientes diagnosticados con SII, así como en los diferentes subtipos del SII y de acuerdo con la gravedad del SII.

8. Objetivos específicos

- Evaluar la regulación de la respuesta antioxidante en los pacientes con SII, en sus diferentes subtipos, y de acuerdo con los niveles de gravedad.
- Evaluar la regulación de la respuesta inflamatoria de bajo grado en SII, en sus diferentes subtipos y de acuerdo con los niveles de gravedad.
- Relacionar el EO con la respuesta inflamatoria de bajo grado en el SII en general, en sus diferentes subtipos y de acuerdo con sus niveles de gravedad.

9. Hipótesis

El SII se ha relacionado con una inflamación de bajo grado la cuál induce un estado de estrés oxidante, por lo que se espera que los pacientes diagnosticados con el SII presenten mayores niveles de marcadores inflamatorios y de estrés oxidante, así como una desregulación de los mecanismos moleculares mediados por NF-kB y Nrf2 respectivamente en comparación con los controles sanos, y que existen diferencias entre sus diferentes subtipos, y de acuerdo con los niveles de gravedad

10. Material y Métodos

10. 1 Sujetos de estudio

El estudio incluyó 30 pacientes diagnosticados con SII mediante los criterios de Roma III de la Consulta Externa de Gastroenterología del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga (HGM) y 30 controles negativos para SII, reclutados de la sala de espera del mismo HGM. Tanto pacientes como controles firmaron la Carta de Consentimiento Informado. El protocolo de estudio fue aprobado por los Comités de Investigación y Ética

en Investigación del HGM (Registro DI/15/107/04/20) y por las Comisiones de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) (Registro 117/2014).

Criterios de inclusión:

Criterios de Roma III para SII: Dolor o molestia abdominal recurrente al menos 2 días a la semana en los últimos 3 meses, asociado con 2 o más de los siguientes:

- Mejoría con la evacuación
- Inicio asociado con un cambio en la frecuencia de las deposiciones
- Inicio asociado con un cambio en la forma o apariencia de las deposiciones

Los criterios debían estar presentes durante los últimos 3 meses, con inicio de los síntomas al menos 6 meses antes del diagnóstico.

**Como "molestia" se entiende una sensación desagradable que no se describe como dolor.*

Para lo anterior, todos los sujetos completaron los siguientes instrumentos:

- Cuestionario de Roma III validado en Español México para TFGI con objeto de confirmar el diagnóstico de SII y clasificar el subtipo predominante. (Ver abajo)

Cuestionario IBS-SSS en Español México para determinar la gravedad de los síntomas solo en pacientes con SII. La gravedad se clasifica en leve= 75 a 175, moderado= 175 a 300, y grave= 300.

Criterios de exclusión:

Infecciones sistémicas o focales recientes (menos de 1 mes), enfermedades crónico-degenerativas (por ej. diabetes, cáncer, enfermedad celíaca, enfermedad inflamatoria intestinal, neoplasias, etc.), consumo de antioxidantes y/o complementos alimenticios.

10.2 Obtención y procesamiento de muestras

Se extrajeron 10 ml de sangre periférica de cada sujeto (pacientes con SII y controles) y se empacaron en tubos vacutainer con EDTA y tubos vacutainer amarillos estériles. Las muestras se procesaron para la obtención de suero, plasma y sangre total y se almacenaron a -80°C hasta su uso.

10.3 Cuantificación de proteínas

El contenido total de proteínas fue estimado por PierceTM BCA Protein Assay Kit (Thermo-Scientific) siguiendo el protocolo del fabricante, el cual genera una reacción colorimétrica detectable a 562 nm. Este método combina la reducción de Cu^{+2} a Cu^{+1} en medio alcalino (reacción de Biuret). El producto de la reacción tiene un color púrpura formado por el complejo de ácido bicinconínico (BCA) con un ion Cu^{+1} .

10.4 Medición de los niveles séricos de citocinas mediante inmunoensayo

Se evaluaron los cambios en los niveles séricos de citocinas antiinflamatorias y pro-inflamatorias (IL-10, IL-4, IL-6, TNF- α) simultáneamente utilizando un inmunoensayo multiplex [Cat. HCYTOMAG-60K-06]. En este, los anticuerpos dirigidos a las citocinas están unidos covalentemente a microesferas teñidas internamente. Las microesferas reaccionan con las moléculas diana que están presentes en las muestras. La cuantificación es mediante fluorescencia con la ayuda del equipo MAGPIX^R con software xPONENT^R.

Estos datos fueron confirmados mediante un *ensayo de inmunoabsorción ligados a enzimas* (ELISA). Utilizando kits ELISA sándwich de acuerdo con el protocolo proporcionado por el fabricante ELISA MAXTM SET (BioLegend).

10.5 Western Blot

-Extracción de proteínas a partir de sangre:

Las proteínas celulares totales se lisaron en un tampón de T-Per (*por sus siglas en inglés* Tissue Protein Extraction Reagent). El buffer T-Per fue preparado (100 µl de DTT 1M, 100 µl de PSMF 0.1M y pastilla de mini complete (Roche), suspendidos en 10 ml de buffer T-Per (sigma)).

Se realizaron alícuotas de sangre total de 50 µl a las cuales se les agregó 50 µl de reactivo T-per preparado. Las muestras se centrifugaron a 12,000 rpm a 4°C durante 30 minutos y se recuperó el sobrenadante. La concentración de proteínas se estimó mediante el ensayo de proteínas BCA (Pierce™ BCA Protein Assay Kit, Thermo-Scientific). Las cantidades equivalentes de proteínas se hirvieron en un tampón de muestra durante 10 min. Las proteínas se separaron por medio de electroforesis durante 90 minutos a 90 volts y se transfirieron eléctricamente a una membrana de polifluoruro de vinilideno (PVDF). Después del bloque, las membranas se incubaron durante toda la noche a 4°C con el anticuerpo primario NF-kB/p65 (1:1000), Nrf2 (1:5000), gp91 (1:1000) respectivamente. Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) (1:1000) como marcador citoplasmático. Después de los lavados, las membranas se incubaron con el anticuerpo secundario apropiado (1:10000) durante 2 horas y luego se visualizó y analizo la densitometría con el software NIH Image J.

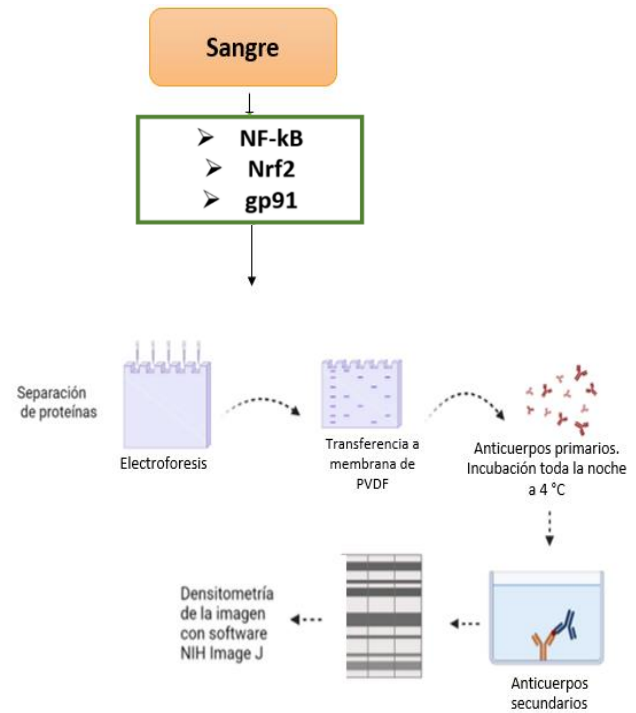
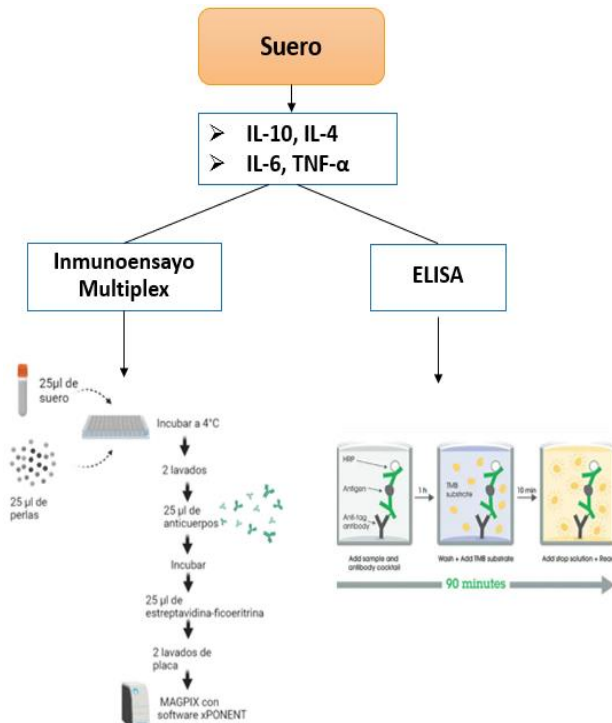
10.6 Diseño experimental

Criterios de inclusión:

- Pacientes con SII según Criterios de Roma III
- Controles negativos para SII
- Pareados por sexo y edad
- Firma del Consentimiento Informado

Criterios de exclusión:

- Enfermedades orgánicas crónicas (diabetes mellitus, autoinmunes, EII, enfermedad celíaca)
- Infecciones locales o sistémicas recientes



10. 7 Análisis de datos

Se utilizó el paquete IBM versión 22, las variables cuantitativas se reportan como medias \pm Desviaciones Estándar (DE). El análisis estadístico se realizó con la prueba de U Mann Whitney y HSD Tukey cuando fuera apropiado, y las correlaciones por r de Pearson. Se consideró una $p \leq 0.05$.

11. Resultados

Los 30 pacientes con SII mediante Criterios de Roma III se distribuyeron por sexo en 27 mujeres y 3 hombres con edad de 42 ± 15 años; y los 30 controles en 27 mujeres y 3 hombres con de edad de 42 ± 14 años. No hubo diferencias entre los grupos en el sexo o la edad (Tabla 1).

11. 1 Características de los pacientes con SII

Los 30 pacientes con SII fueron a su vez clasificados en SII-NC, que fue el subtipo más prevalente (n: 14, 47%, 13 mujeres, 1 hombre; rango de edad: 20-61 años), seguido de SII-E (n: 11, 37%, 10 mujeres, 1 hombre: rango de edad: 24-63 años), SII-D (n: 4, 13%, 3 mujeres, 1 hombre: rango de edad 31-65 años), y SII-M (n: 1, 3%, 1 mujer, 19 años). Para efectos del análisis estadístico, el único paciente con SII-M fue excluido.

En cuanto a la gravedad de los pacientes con SII, 4 fueron clasificados como Leves (3 mujeres, 1 hombre; rango de edad: 24-61 años), 12 Moderados (11 mujeres, 1 hombre; rango de edad: 20-55 años) y 14 Graves (13 mujeres, 1 hombre; rango 19-63 años). La calificación de la gravedad según el IBS-SSS (media \pm DE en los diferentes subtipos de SII fue, SII-NC: 256 ± 71 , SII-E: 310 ± 101 , y SII-D: 352 ± 68 , ($p = 0.09$).

Tabla 1. Características generales de los grupos de estudio

	SII n = 30	Controles n = 30	P
Sexo: N (%)			
Femenino	27 (90)	27 (90)	0.99
Masculino	3 (10)	3 (10)	
Edad: años (media ± DE)			
	42±14	42±15	0.93
Gravedad (IBS-SSS*):			
n (%)			
Leve	4 (13)	--	
Moderado	12 (40)	--	--
Grave	14 (47)	--	
Subtipos SII:			
n (%)			
SII-NC	14 (47)	--	
SII-E	11 (37)	--	--
SII-D	4 (13)	--	
SII-M	1 (3)	--	

SII, Síndrome de Intestino irritable; DE, desviación estándar; NC, No Clasificable; E, estreñimiento; D, diarrea; M, mixto

11.2 Determinación de Interleucinas anti-inflamatorias e inflamatorias

Para llevar a cabo este ensayo, medimos las concentraciones en suero de las diferentes interleucinas en pacientes con SII y controles. En la (Figura 3, A) se observan los niveles de IL-10 en pacientes con SII y controles, observando que en SII se encontró una menor concentración de esta interleucina en comparación con los controles, 0.39 ± 0.61 vs controles 0.54 ± 0.58 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ($*p<0.01$). Así mismo, los pacientes con SII presentaron concentraciones menores en IL-4: $18.02\pm 23.$, en comparación con el grupo control:

39.37±54.38 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, ($*p < 0.01$), (Figura 3, B). En cuanto a la concentración de interleucinas pro-inflamatorias, en SII se encontró un aumento notable en la concentración de IL-6: 0.01 ± 0.03 en comparación con los controles: 0.001 ± 0.002 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ($p < 0.01$), (Figura 3, C); y concentraciones más altas de TNF- α : 0.01 ± 0.01 vs. controles: 0.003 ± 0.003 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ($p < 0.01$), (Figura 3, D).

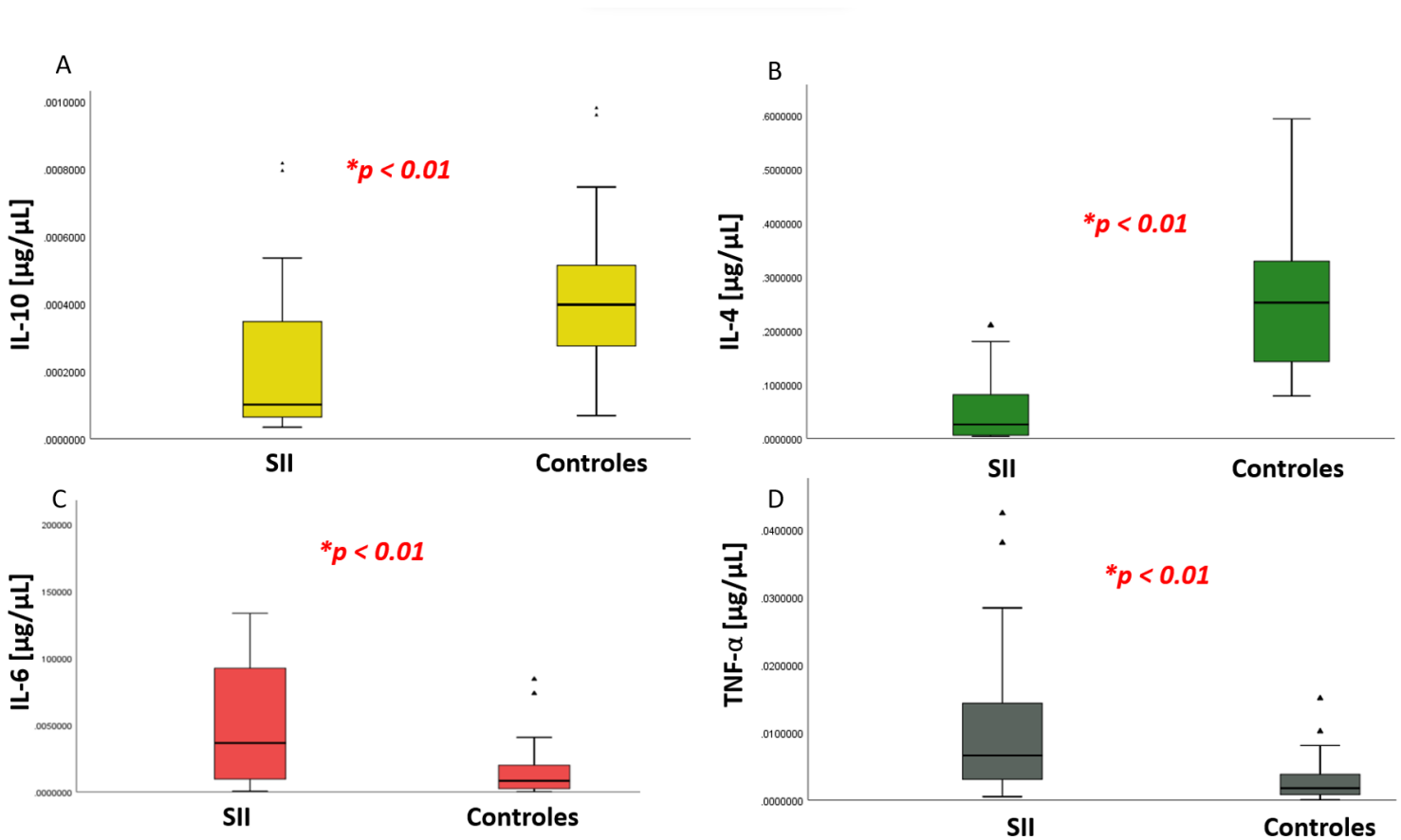


Figura 3. Determinación de interleucinas en suero de pacientes con SII y en controles. A. Interleucina (IL)-10; B. IL-4; C. IL-6; D Factor de necrosis tumoral (TNF)- α

11.3 Interleucinas anti-inflamatorias e inflamatoria según subtipos de SII

En la Figura 4 se observa la concentración de cada una de las interleucinas en los diferentes subtipos de SII. En cuanto a la IL-10 (Figura 4, A), IL-4 (Figura 4, B) e IL-6 (Figura 4, C) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los subtipos de SII. Sin embargo, para TNF- α se observaron mayores niveles en SII-D: 0.01 ± 0.01 vs SII-E: 0.005 ± 0.003 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, ($*p=0.05$).

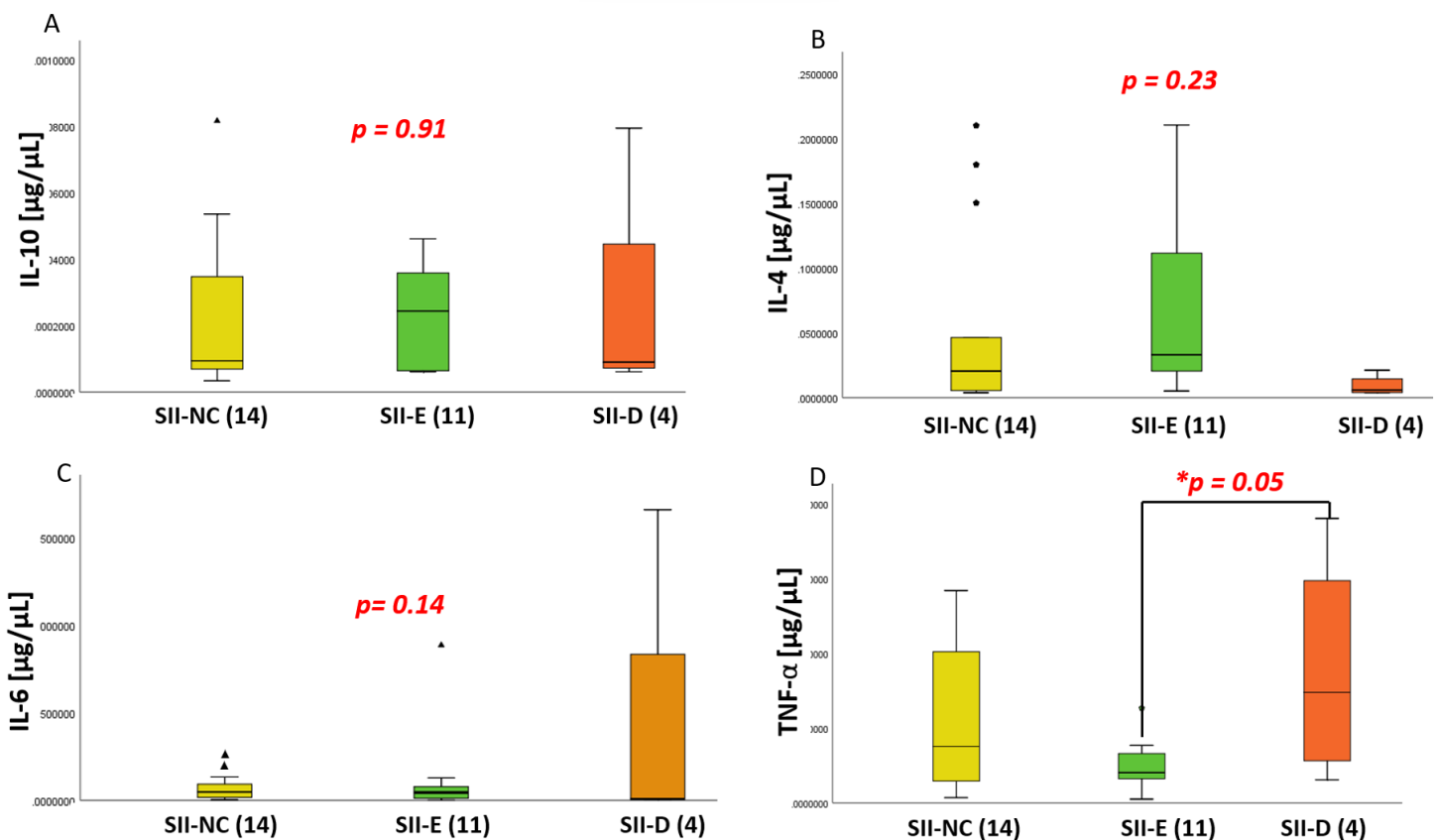


Figura 4. Determinación de interleucinas en los diferentes subtipos del SII y en controles. A. Interleucina (IL)-10; B. IL-4; C. IL-6; D Factor de necrosis tumoral (TNF)- α

11.4 Correlación entre EO e Interleucinas

Uno de los objetivos de este estudio fue realizar una correlación entre los biomarcadores de EO (anteriormente reportados en otro de nuestros estudios) e interleucinas en SII y controles, y en cada uno de los subtipos del SII. Al realizar la correlación entre cada una de las interleucinas (IL-10, IL-4, IL-6 y TNF- α) y los biomarcadores de EO (MDA, GSH y GSSH) en los pacientes con SII no se observó ninguna correlación estadísticamente significativa. Sin embargo, al realizar las correlaciones de acuerdo con los subtipos de SII, en SII-D se observó una correlación positiva y estadísticamente significativa entre GSH e IL-4: $r=0.99$ ($*p=0.04$). (Figura 5). Por otro lado, en SII-E, observamos dos correlaciones positivas y estadísticamente significativas (Figura 6); la primera dada por I MDA e IL-4: $r=0.77$ ($**p=0.03$) (Figura 6, A), y la segunda entre IL-10 y TNF- α : $r= 0.74$ ($p<0.00$) (Figura 6, B).

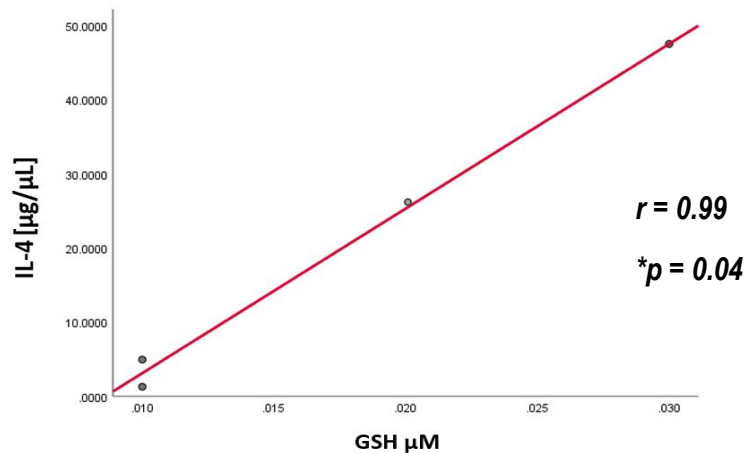


Figura 5. Correlación significativa en SII-D. Correlación entre IL-4 y glutatión reducido (GSH). Correlación de Pearson

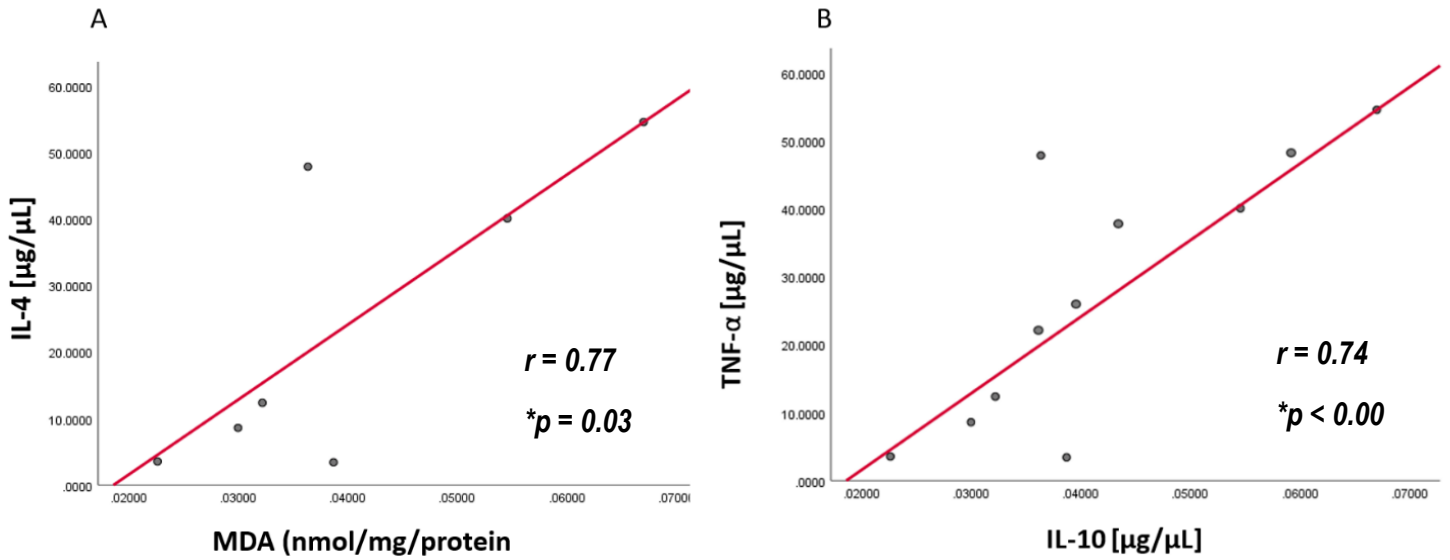


Figura 6. Correlaciones significativas en SII-E. A. Correlación positiva entre IL-4 y Malondialdehído (MDA); B. Correlación positiva entre el Factor de necrosis tumoral (TNF)-α e IL-10. Correlación de Pearson

11.5 Concentración de Interleucinas en los diferentes niveles de gravedad de SII

Al medir la concentración de las interleucinas (IL-10, IL-4, IL-6 Y TNF-α) en los diferentes niveles de gravedad de SII, no se encuentro ninguna diferencia significativa (Tabla 2).

Gravedad (IBS-SSS)	n	IL-10	IL-4	IL-6	TNF-α
Leve	4	0.00±0.00	0.06±0.09	0.00±0.00	0.00±0.00
Moderado	12	0.00±0.00	0.06±0.06	0.01±0.02	0.00±0.00
Grave	14	0.00±0.00	0.04±0.05	0.01±0.04	0.01±0.001
Valor de p		p = 0.6	p = 0.8	p = 0.7	p = 0.5

Tabla 2. Concentración de Interleucinas en los diferentes niveles de gravedad de SII. Los resultados se muestran como media ± DE.

11.6. Expresión del factor de transcripción NF- κ B

Al medir la expresión del factor de transcripción NF- κ B, se observó una mayor expresión de este factor de transcripción en los pacientes con SII: 3.66 ± 2.71 en comparación con controles: 0.41 ± 0.41 ($p < 0.00$) (Figura 7).

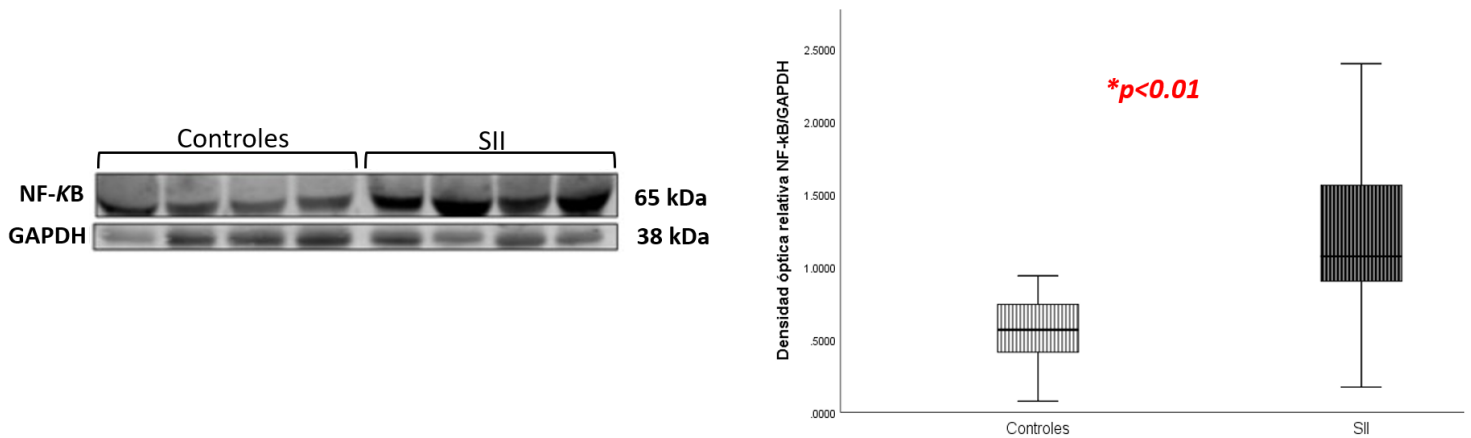


Figura 7. Comparación de la expresión del factor de transcripción NF- κ B p65 en sangre periférica de pacientes con SII y controles. Los Niveles de NF- κ B (subunidad p65) fueron determinados por Western blot en SII y en controles. El análisis densitométrico fue normalizado con GAPDH (como control de carga). Los resultados representan la media \pm De de tres experimentos independientes. * $p < 0.01$

11.7 Expresión del factor de transcripción Nrf2

Al evaluar la expresión del factor de transcripción Nrf2 observamos una menor expresión de este factor de transcripción en los pacientes con SII: 0.96 ± 1.04 en comparación con los controles: 0.32 ± 0.25 . ($p=0.01$) (Figura 8).

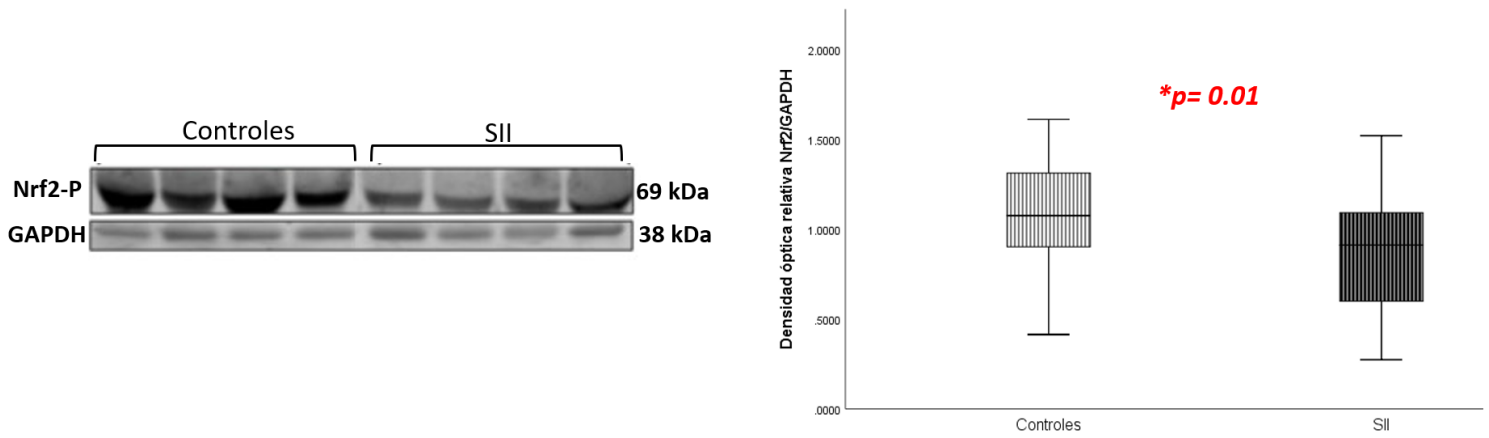


Figura 8. Comparación de la expresión del factor de transcripción Nrf2 en sangre periférica de pacientes con SII y controles. Los Niveles de Nrf2 fueron determinados por Western blot en SII y en controles. El análisis densitométrico fue normalizado con GAPDH (como control de carga). Los resultados representan la media \pm De de tres experimentos independientes. * $p=0.01$.

11.8 Expresión de NADPH oxidasa

Se evaluó la expresión de la subunidad catalítica gp91 y observamos una mayor expresión de esta proteína en los pacientes con SII: 4.28 ± 1.81 en comparación con los controles: 3.29 ± 1.03 ($p=0.03$) (**Figura 9**).

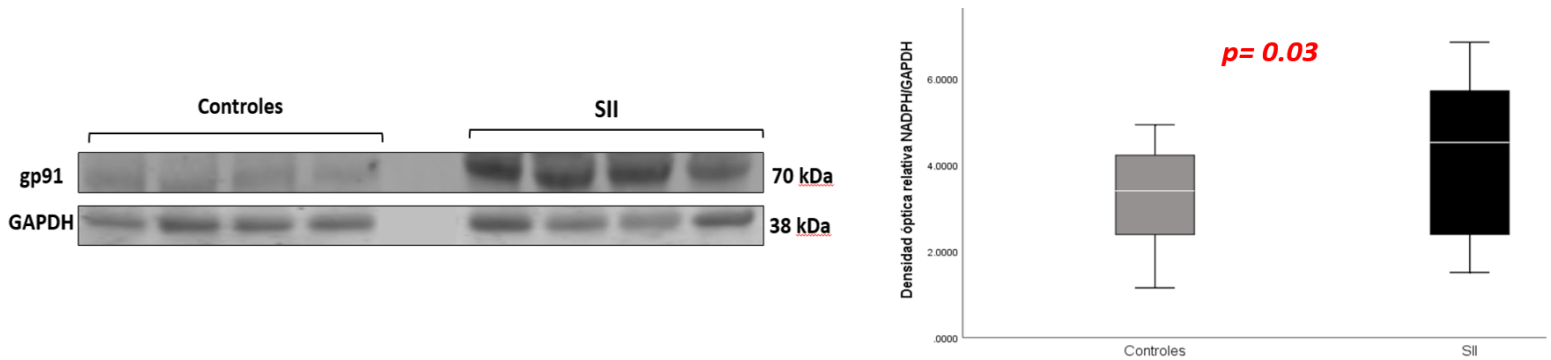


Figura 9. Comparación de la expresión de NADPH oxidasa en sangre periférica de pacientes con SII y controles. Los Niveles de NADPH oxidasa (subunidad gp91) fueron determinados por Western blot en SII y en controles. El análisis densitométrico fue normalizado con GAPDH (como control de carga). Los resultados representan la media \pm De de tres experimentos independientes. * $p=0.03$.

12. Discusión

La falta de un orquestador en la fisiopatología del SII es probablemente la búsqueda más significativa en la investigación de este TIIC. En los últimos años la teoría emergente de la activación del sistema inmune y por consiguiente inflamación de bajo grado como factor fisiopatológico clave en el SII se ha vuelto bastante intrusiva. Las interleucinas forman parte del sistema inmune y juegan un papel esencial en la regulación de la inflamación. Varios estudios han reportado alteración en la concentración de interleucinas en pacientes con SII. Sin embargo, esto aún no está completamente

establecido ya que existe una diferencia de opinión con respecto al perfil de interleucinas en SII. Patel et al., 2017, midieron los niveles de IL-2, 6, 8 y 10 en pacientes con SII y reportaron que los niveles de IL-2 e IL-8 estaban en mayor concentración en los pacientes con SII en comparación con los controles. Hughes et al., 2013, mostraron que los niveles sanguíneos de IL-1 β , TNF- α e IL-6 se correlacionan positivamente con los síntomas del SII, mientras que se han observado correlaciones negativas para IL-10 e IL-12.

Los estudios de genotipificación realizados en pacientes con SII indican que es más probable que tengan alelos relacionados con la producción excesiva de IL-6, IL-2, TNF- α y una disminución de la producción de IL-10, lo que respalda la teoría del desbalance entre las interleucinas proinflamatorias y antiinflamatorias en SII (Santhosh et al.,2010). Schmulson et al., 2013, analizaron los polimorfismos por subtipos de SII y observaron diferencias con disminución del genotipo alto productor de IL-10 y aumento del alto productor de TNF- α , especialmente en pacientes con SII-D. Esto sugiere una predisposición genética a la regulación inmune anormal ocasionado a un menor componente antiinflamatorio en este subtipo. Nuestros resultados corroboran que existe un desbalance entre interleucinas anti-inflamatoria (IL-10, IL-4) y pro-inflamatorias (TNF- α , IL-6) en pacientes con SII en comparación con controles. En cuanto a los niveles elevados de IL-6 y TNF- α , en pacientes con SII, estas interleucinas proinflamatorias pueden ser liberadas en respuesta a diversos estímulos, como el estrés, la dieta, la microbiota intestinal alterada o la disfunción del sistema nerviosos entérico. La IL-6 es una citocina multifuncional que se produce en respuesta a la inflamación, puede ser secretada por los mastocitos y se ha demostrado que induce la activación directa de las

neuronas secretomotoras submucosas, modulando así la función intestinal (O'malley et al., 2011). Asimismo, Mitselou et al., 2020, estudiaron los niveles de IL-6 y TNF-a en biopsias de pacientes con SII y reportaron que estas interleucinas están elevadas en pacientes con SII y pueden desempeñar un papel importante en la patogenia del SII.

Las estrategias diagnósticas y terapéuticas óptimas para el manejo del SII consideran los síntomas que presenta el paciente y el hábito intestinal predominante (diarrea, estreñimiento o mixto). En consecuencia, los enfoques para cada subtipo de SII pueden variar considerablemente, por tal motivo, es importante dilucidar el mecanismo fisiopatológico de cada uno. Para esto, en nuestro estudio evaluamos las interleucinas en los diferentes subtipos del SII y se confirmaron los hallazgos previos de que los sujetos con SII-D presentan mayores niveles de TNF- α , en comparación con el subtipo de SII-E, sugiriendo una regulación inmune anormal dada por un mayor componente inflamatorio. El diagnóstico de SII-D a menudo se percibe como un desafío, dada la superposición de síntomas con otras afecciones gastrointestinales (Moshiree et al., 2022). Por ejemplo, una de las alteraciones más típicas de la interacción intestino-cerebro en el intestino de estos pacientes es la mayor permeabilidad intestinal y los estudios han confirmado que los niveles de expresión de las uniones estrechas de los enterocitos disminuyeron en pacientes con SII-D (Bertiaux-Vandaële et al., 2011)(Piche et al., 2009).

Por otra parte, hasta lo mejor de nuestro conocimiento, este es el primer estudio que realiza una correlación entre EO e interleucinas en SII y en sus diferentes subtipos. Esto es de suma importancia para poder ver las diferencias en el mecanismo fisiopatológico en cada subtipo de SII, ya que, la inflamación se caracteriza por la producción desregulada de radicales libres, por ejemplo, ERO, citocinas inflamatorias tales como

TNF- α e IL-6, y biomarcadores de peroxidación lipídica como MDA. Por lo tanto, sus niveles aumentados pueden asociarse con inflamación desregulada en condiciones patológicas (Khansari et al., 2009; Minoguchi et al., 2006). En este estudio, encontramos en SII-D, una correlación directamente positiva entre los niveles de IL-4 y GSH; y en SII-E encontramos dos correlaciones positivas, la primera dada por IL-4 y MDA y la segunda por TNF- α e IL-10. Las diferencias en la relación de EO con interleucinas de acuerdo con los subtipos de SII sugiere diferentes mecanismos fisiopatológicos subyacentes para cada subtipo de SII, ya que, el mecanismo compensatorio para contrarrestar la actividad inflamatoria de bajo grado en SII-D esta dado por un efecto antioxidante y en SII-E está dada principalmente por interleucinas, lo cual puede determinar potencialmente biomarcadores de respuesta terapéutica en estos subgrupos, de acuerdo con dichos mecanismos. El hecho de que, en el subtipo de SII más frecuente entre nuestros pacientes, SII-NC, no observamos correlaciones entre EO y citocinas, sugiere que la activación inmune no es un mecanismo fisiopatológico fundamental en este subgrupo, lo cual es un hallazgo novedoso. Es probable que en este subtipo predominen mecanismos relacionados con sensibilidad visceral o factores psicosociales, pero se requieren mayores estudios para esclarecer estos hallazgos.

Por otro lado, el factor de transcripción NF- κ B regula múltiples aspectos de las funciones inmunes innatas y adaptativas y sirve como mediador fundamental de la respuesta inflamatoria. Su activación conduce a la expresión de genes proinflamatorios como citocinas y quimiocinas, que reclutan y activan a las células del sistema inmune en el sitio de inflamación (Dorrington & Fraser, 2019). Por lo anterior, nuestro siguiente paso fue evaluar la expresión de NF- κ B, ya que este factor se ha convertido en el objetivo para el

desarrollo de nuevas terapias en enfermedades inflamatorias intestinales. Nuestro análisis encontró que NF- κ B está mayormente expresado en pacientes con SII en comparación con los controles, lo que concuerda con lo ya reportado en la literatura en modelos animales de este trastorno. Como se mencionó anteriormente, se han investigado las vías de señalización de NF- κ B en el colon, en un modelo de ratas con SII inducido por ácido 2,4,6-trinitrobencenosulfónico, la administración de oridonina, un compuesto con efectos antiinflamatorios inhibió la fosforilación y la expresión de NF- κ B (Shao et al., 2021). En consecuencia, gran parte de nuestra comprensión de NF- κ B se deriva del estudio de vías de señalización inmunológicamente relevantes. El alcance de NF- κ B, sin embargo, se extiende a la regulación transcripcional más allá de los límites de la respuesta inmune, actuando ampliamente para influir en los eventos de expresión génica que afectan la supervivencia, diferenciación y proliferación celular.

En cuanto al factor de transcripción Nrf2, desempeña un papel crítico en la defensa contra el EO y la preservación de la homeostasis celular al inducir la expresión de enzimas antioxidantes y suprimir la inflamación. Su regulación es un aspecto importante en la respuesta celular al daño oxidativo y en la prevención de enfermedades asociadas con el EO. Piotrowska et al., 2021, revisaron la relevancia de Nrf2 en el desarrollo y la funcionalidad adecuada del tracto gastrointestinal y el mantenimiento de su funcionalidad adecuada. Este factor de transcripción también parece ser prometedor para la prevención de la enfermedad inflamatoria intestinal, incluida la CUCI y la enfermedad de Crohn, así como sus complicaciones graves, como la fibrosis intestinal, y el cáncer colorrectal (Pompili et al., 2019). En otro estudio, Jia et al., 2021, evaluaron el papel de la quercentina, que es un flavonoide con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias,

sobre el EO inducido por diquat en células epiteliales intestinales de línea celular porcina. Y los hallazgos muestran que la quercentina atenúa la lesión celular inducida por diquat al promover la expresión de Nrf2 y regular la homeostasis redox relacionada con GSH en enterocitos. Semejante con estos hallazgos, en nuestro estudio, encontramos una menor expresión del factor de transcripción Nrf2 en los pacientes con SII, sugiriendo un desequilibrio en el estado redox. Estos hallazgos indican que los factores de transcripción NF- κ B y Nrf2 pueden actuar sinérgicamente para estimular la respuesta inmunitaria.

La desregulación del equilibrio redox compromete la defensa antimicrobiana, y altera las respuestas inmunes innata y adaptativa. NADPH oxidasa es un importante productor de ERO las cuales están implicadas en el mantenimiento de una barrera epitelial saludable en el intestino y para la modulación de la microbiota (Herfindal et al., 2022). Aviello & Knaus, 2018, mencionan que las señales de NADPH/ERO están asociadas con activación de las células inmunes e inflamación en el tracto gastrointestinal. Por otro lado, Yu et al., 2018, proporcionan dos hallazgos importantes: El primero es sobre la estimulación inflamatorio a través de LPS que inducen la expresión de NOX en macrófagos y la señalización de ERO, un mediador que incrementa aún más las señales inflamatorias y la respuesta inmune en macrófagos. En segundo lugar, la inflamación en los tejidos de colon regula al alza la expresión de NOX e induce producción y señalización de ERO, un mediador que incrementa la respuesta inmune, mientras que la inhibición de NOX anula la señalización de NF- κ B mediada por ERO y la respuesta inmune en el colon. En el presente estudio, observamos una mayor expresión de la subunidad catalítica gp91, sugiriendo que las células del sistema inmune pueden estar activadas desreguladamente y estar generando un ambiente de EO.

En resumen, la relación entre la barrera intestinal alterada, la disbiosis, la activación de NOX, la generación de ERO, la señal de NF- κ B y la liberación de interleucinas proinflamatorias es un proceso complejo que puede tener implicaciones importantes en la etiología del SII. Sin embargo, hasta el momento no hay biomarcadores específicos disponibles para el SII, y no se conoce a ciencia cierta el mecanismo fisiopatológico subyacente de este trastorno. Como consecuencia, el tratamiento actual se restringe principalmente al manejo de los síntomas, con resultados en su mayoría desalentadores. Sin embargo, los resultados mostrados en este estudio abren nuevas perspectivas para investigaciones futuras que pueden arrojar luz sobre las complejas interacciones entre el sistema inmune, el EO y las interleucinas en SII.

13. Conclusión

La relación entre la activación del sistema inmune y el SII es compleja. Sin embargo, los datos obtenidos en este estudio de investigación sugieren la participación de la enzima NADPH oxidasa como parte de la activación del sistema inmune. La activación de NADPH oxidasa lleva a la producción aumentada de ERO, generando EO. El EO puede activar las vías de señalización que conducen a la activación y traslocación de NF- κ B al núcleo. La activación de NF- κ B en el núcleo induce la transcripción de genes proinflamatorios, como interleucinas proinflamatorias. En consecuencia, la disfunción en la regulación entre los factores de transcripción NF- κ B y Nrf2 puede llevar a una mayor susceptibilidad a la inflamación y al daño oxidante. Esta cascada de eventos conecta al EO con la inflamación y destaca la interconexión entre el sistema inmunológico. Es importante resaltar que estos mecanismos no actúan de forma aislada, sino que están

interrelacionados y pueden contribuir conjuntamente al desarrollo y la manifestación de los síntomas del SII.

14. Perspectivas

Es crucial que la investigación continúe para comprender completamente los mecanismos detrás del SII, con el fin de identificar biomarcadores para el diagnóstico y el desarrollo de tratamientos más efectivos en SII. Los cambios en la composición del microbioma, es decir, la disbiosis, y la desregulación de la serotonina (5-HT) se han relacionado con el SII. Sin embargo, la evidencia que respalda su papel fisiopatológico en este trastorno es bastante controvertido. Por tal motivo, las perspectivas de esta investigación son: Determinar la correlación entre la disbiosis fecal, los metabolitos producidos por la microbiota y su efecto sobre la señalización serotoninérgica y la relación con marcadores de inflamación y EO a nivel sistémico y en materia fecal.

- 15. Anexos
XXVII Simposio del Departamento de Ciencias de la Salud.
UAM -Iztapalapa. Del 28 al 2 Diciembre del 2021



Programa en
Biología Experimental



HOSPITAL
GENERAL
de MÉXICO
DR. EDUARDO UCCAGÁ



Casa abierta al tiempo



INGER

Síndrome de Intestino Irritable (SII)

Biol. Exp. Morales Guzmán Alizon Sujey

¿QUÉ ES EL SII?

- Es un trastorno de la interacción intestino-cerebro
- Primer motivo de consulta al Gastroenterólogo

Se caracteriza por la presencia de síntomas gastrointestinales relacionados con alteraciones de la motilidad, hipersensibilidad visceral, alteración de la función de la mucosa e inmune y/o cambios en la constitución de la microbiota



DIAGNÓSTICO

- Basado en síntomas gastrointestinales (descartando síntomas de alarma)
- Mediante los criterios de Roma IV



Los criterios (deben estar presentes al menos 2 meses en los últimos 4 meses)

SÍNTOMAS



dolor abdominal



Inflamación abdominal



Estreñimiento, diarrea o ambos

PREVALENCIA



El Estudio Epidemiológico Global de la Fundación de Roma ha encontrado una prevalencia global del 4.1% (intervalo de confianza del 95% [IC 95%]: 3.9-4.2), y del 4.0% (IC 95%: 3.2-4.9) en México

SUBTIPOS

Se clasifica con la ayuda de:

ESCALA DE BRISTOL	
Tipo 1	Heces duras y pequeñas que forman un bloque sólido que puede ser difícil de expulsar.
Tipo 2	Heces duras y pequeñas que forman un bloque sólido que puede ser difícil de expulsar.
Tipo 3	Heces duras y pequeñas que forman un bloque sólido que puede ser difícil de expulsar.
Tipo 4	Heces duras y pequeñas que forman un bloque sólido que puede ser difícil de expulsar.
Tipo 5	Heces duras y pequeñas que forman un bloque sólido que puede ser difícil de expulsar.
Tipo 6	Heces duras y pequeñas que forman un bloque sólido que puede ser difícil de expulsar.
Tipo 7	Heces duras y pequeñas que forman un bloque sólido que puede ser difícil de expulsar.

➔

- SII-Estreñimiento
- SII-Diarrea
- SII-Mixto
- SII-No Clasificable

RECOMENDACIONES



Beber abundante agua al día



Practicar ejercicio físico con regularidad.



Practicar actividades relajantes y sociales

• **First International Symposium on Experimental and Translational Medicine**
 Rectoría General UAM. 30 de Marzo del 2023



Posgrado en Biología Experimental

Correlation of oxidative stress (OS) with interleukins in Irritable Bowel Syndrome (IBS)

Authors: Morales-Guzmán AS^{1,2}, Alarcón-Aguilar A², Luna-López A³, Santana-Vargas AD⁴, Motola-Kuba M⁴, Haidenberg-David F¹, Gutiérrez-Reyes G¹, Schmulson MJ¹.

¹Laboratorio de Hígado, Páncreas y Mollidad (HIPAM), Unidad de Investigación en Medicina Experimental (UME), Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
²Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM -I). ³Instituto Nacional de Geriatria (INGER), Cd Mx -México. ⁴Hospital General de México (HGM), Dr. Eduardo Liceaga, Cd Mx -México.

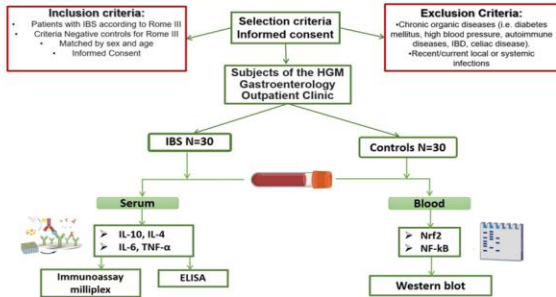
Introduction

- > IBS is considered a multifactorial disorder that includes immune activation and low-grade inflammation among others
- > We have previously shown a higher OS in IBS vs. controls given by higher concentration of malondialdehyde (MDA), and a lower concentration of the antioxidants system: reduce glutathione (GSH) and the ratio of GSH/oxidative glutathione (GSSG)¹

Aims

To determine the molecular processes involved in the regulation of IBS in general and in IBS subtypes, with the intention of clarifying the underlying pathophysiological mechanisms of IBS and IBS subtypes (IBS with Constipation [IBS-C, n=11], Diarrhea [IBS-D, n=4], Mixed [IBS-M, n=1], Unsubtyped [IBS-U, n=14]).

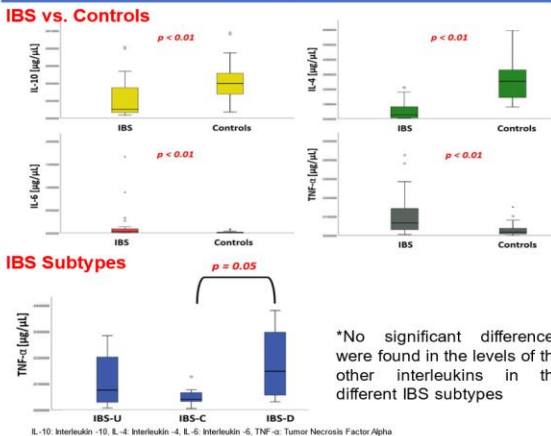
Methods



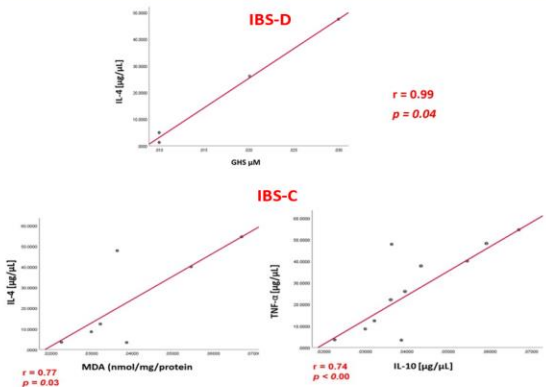
IL-10: Interleukin -10, IL-4: Interleukin -4, IL-6: Interleukin -6, TNF-α: Tumor Necrosis Factor Alpha, NF-κB: Factor Nuclear Kappa -Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells, Nrf2: Nuclear Factor Erythroid 2 related factor

*Data were analyzed with the Student's t and MannWhitney U test and Tukey's HSD when appropriate, and Pearson's correlations

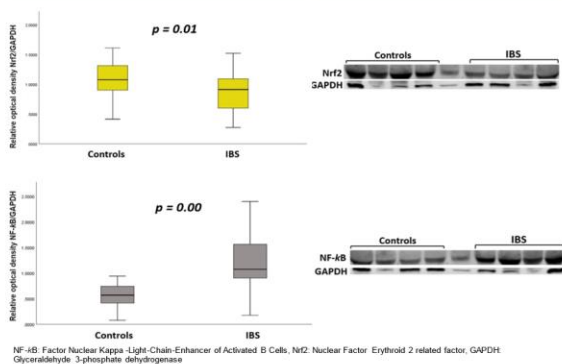
Results



Correlation of OS with Interleukins



Western Blot



Conclusions

- > This study confirms that there is an imbalance between pro and anti-inflammatory cytokines in IBS
- > The data presented in this study suggest different pathophysiological mechanisms in IBS subtypes
- > Our results show that patients with IBS have higher expression of the transcription factor NF-κB, suggesting its participation in IBS, modulating the immune response
- > Also, IBS patients have lower expression of the Nrf2 transcription factor, suggesting an imbalance in the redox state

References

1. Morales-Guzmán AS et al. National Gastroenterology Week 2022

16. Referencias

- Abais, J. M., Xia, M., Zhang, Y., Boini, K. M., & Li, P. L. (2015). Redox Regulation of NLRP3 Inflammasomes: ROS as Trigger or Effector? En *Antioxidants and Redox Signaling* (Vol. 22, Número 13, pp. 1111–1129). Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.5994>
- Aguilera-Lizarraga, J., Hussein, H., & Boeckstaens, G. E. (2022). Immune activation in irritable bowel syndrome: what is the evidence? En *Nature Reviews Immunology*. Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41577-022-00700-9>
- Aviello, G., & Knaus, U. G. (2018). NADPH oxidases and ROS signaling in the gastrointestinal tract review-article. En *Mucosal Immunology* (Vol. 11, Número 4, pp. 1011–1023). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41385-018-0021-8>
- Bashashati, M., Rezaei, N., Andrews, C. N., Chen, C. Q., Daryani, N. E., Sharkey, K. A., & Storr, M. A. (2012). Cytokines and irritable bowel syndrome: Where do we stand? *Cytokine*, 57(2), 201–209. <https://doi.org/10.1016/J.CYTO.2011.11.019>
- Bertiaux-Vandaële, N., Youmba, S. B., Belmonte, L., Lecleire, S., Antonietti, M., Gourcerol, G., Leroi, A. M., Déchelotte, P., Ménard, J. F., Ducrotté, P., & Coëffier, M. (2011). The expression and the cellular distribution of the tight junction proteins are altered in irritable bowel syndrome patients with differences according to the disease subtype. *American Journal of Gastroenterology*, 106(12), 2165–2173. <https://doi.org/10.1038/ajg.2011.257>
- Black, C. J., Drossman, D. A., Talley, N. J., Ruddy, J., & Ford, A. C. (2020). Functional gastrointestinal disorders: advances in understanding and management. En *The Lancet* (Vol. 396, Número 10263, pp. 1664–1674). Lancet Publishing Group. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32115-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32115-2)
- Brandes, R. P., Weissmann, N., & Schröder, K. (2014). Nox family NADPH oxidases: Molecular mechanisms of activation. En *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 76, pp. 208–226). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.07.046>
- Burns, G. L., Hoedt, E. C., Walker, M. M., Talley, N. J., & Keely, S. (2021). Physiological mechanisms of unexplained (functional) gastrointestinal disorders. *The Journal of Physiology*, 599, 5141–5161. <https://doi.org/10.1113/JP281620#support-information-section>
- Canning, P., Sorrell, F. J., & Bullock, A. N. (2015). Structural basis of Keap1 interactions with Nrf2. En *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 88, Número Part B, pp. 101–107). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.05.034>
- Cash, B. D., Rubenstein, J. H., Young, P. E., Gentry, A., Nojkov, B., Lee, D., Andrews, A. H., Dobhan, R., & Chey, W. D. (2011). The prevalence of celiac disease among patients with nonconstipated irritable bowel syndrome is similar to controls. *Gastroenterology*, 141(4), 1187–1193. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.06.084>
- Chauhan, P., Nair, A., Patidar, A., Dandapat, J., Sarkar, A., & Saha, B. (2021). A primer on cytokines. *Cytokine*, 145. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155458>

- Choghakhori, R., Abbasnezhad, A., Hasanvand, A., & Amani, R. (2017). Inflammatory cytokines and oxidative stress biomarkers in irritable bowel syndrome: Association with digestive symptoms and quality of life. *Cytokine*, *93*(May), 34–43. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.05.005>
- Dorrington, M. G., & Fraser, I. D. C. (2019). NF-κB signaling in macrophages: Dynamics, crosstalk, and signal integration. En *Frontiers in Immunology* (Vol. 10, Número APR). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00705>
- Drossman, D. A., Chang, L., Bellamy, N., Gallo-Torres, H. E., Lembo, A., Mearin, F., Norton, N. J., & Whorwell, P. (2011). Severity in irritable bowel syndrome: A rome foundation working team report. *American Journal of Gastroenterology*, *106*(10), 1749–1759. <https://doi.org/10.1038/ajg.2011.201>
- Drossman, D. A., & Hasler, W. L. (2016). Rome IV - Functional GI disorders: Disorders of gut-brain interaction. *Gastroenterology*, *150*(6), 1257–1261. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2016.03.035>
- Fainstein, K., & Fainstein, M. K. (2007). *Nrf2: LA HISTORIA DE UN NUEVO FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN QUE RESPONDE A ESTRÉS OXIDATIVO** (Vol. 26, Número 1).
- Ford, A. C., & Talley, N. J. (2011). Mucosal inflammation as a potential etiological factor in irritable bowel syndrome: A systematic review. *Journal of Gastroenterology*, *46*(4), 421–431. <https://doi.org/10.1007/s00535-011-0379-9>
- Francis, C. Y., Morris, J., & Whorwell, P. J. (1997). The irritable bowel severity scoring system : a simple method of monitoring irritable bowel syndrome and its progress. En *Aliment Pharmacol Ther* (Vol. 11).
- Gralnek, I. M., Hays, R. D., Kilbourne, A. A., Naliboff, B., & Mayer, E. A. (2000). The impact of irritable bowel syndrome on health-related quality of life. *Gastroenterology*, *119*(3), 654–660. <https://doi.org/10.1053/gast.2000.16484>
- Hammad, H., & Lambrecht, B. N. (2015). Barrier Epithelial Cells and the Control of Type 2 Immunity. En *Immunity* (Vol. 43, Número 1, pp. 29–40). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.07.007>
- Hayden, M. S., & Ghosh, S. (2014). Regulation of NF-κB by TNF family cytokines. En *Seminars in Immunology* (Vol. 26, Número 3, pp. 253–266). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2014.05.004>
- Hellström, P. M., & Benno, P. (2019). The Rome IV: Irritable bowel syndrome - A functional disorder. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, *40–41*, 101634. <https://doi.org/10.1016/J.BPG.2019.101634>
- Herfindal, A. M., Rocha, S. D. C., Papoutsis, D., Bøhn, S. K., & Carlsen, H. (2022). The ROS-generating enzyme NADPH oxidase 1 modulates the colonic microbiota but offers minor protection against dextran sulfate sodium-induced low-grade colon inflammation in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, *188*, 298–311. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.06.234>
- Hou, Q., Huang, Y., Zhu, Z., Liao, L., Chen, X., Han, Q., & Liu, F. (2019). Tong-Xie-Yao-Fang improves intestinal permeability in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome rats by inhibiting the

- NF- κ B and notch signalling pathways. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1).
<https://doi.org/10.1186/s12906-019-2749-4>
- Hughes, P. A., Zola, H., Penttila, I. A., Blackshaw, L. A., Andrews, J. M., & Krumbiegel, D. (2013). Immune activation in irritable bowel syndrome: Can neuroimmune interactions explain symptoms. *American Journal of Gastroenterology*, 108(7), 1066–1074. <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.120>
- Jia, H., Zhang, Y., Si, X., Jin, Y., Jiang, D., Dai, Z., & Wu, Z. (2021). Quercetin alleviates oxidative damage by activating nuclear factor erythroid 2-related factor 2 signaling in porcine enterocytes. *Nutrients*, 13(2), 1–15. <https://doi.org/10.3390/nu13020375>
- Khansari, N., Shakiba, Y., & Mahmoudi, M. (2009). Chronic Inflammation and Oxidative Stress as a Major Cause of Age-Related Diseases and Cancer. En *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery* (Vol. 3).
- Krammer, L., Sowa, A. S., & Lorentz, A. (2019). Mast cells in irritable bowel syndrome: A systematic review. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*, 28(4), 463–472.
<https://doi.org/10.15403/jgld-229>
- Kumar, S., Singh, P., & Kumar, A. (2022). Targeted therapy of irritable bowel syndrome with anti-inflammatory cytokines. En *Clinical Journal of Gastroenterology* (Vol. 15, Número 1). Springer Japan. <https://doi.org/10.1007/s12328-021-01555-8>
- McKernan, D. P., Gaszner, G., Quigley, E. M., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2011). Altered peripheral toll-like receptor responses in the irritable bowel syndrome. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 33(9), 1045–1052. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04624.x>
- Medzhitov, R. (s/f). *The spectrum of inflammatory responses*. <https://www.science.org>
- Mete, R., Tulubas, F., Oran, M., Yilmaz, A., Altindag Avci, B., Yildiz, K., Turan, C. B., & Gurel, A. (2013). The role of oxidants and reactive nitrogen species in irritable bowel syndrome: A potential etiological explanation. *Medical Science Monitor*, 19(1), 762–766. <https://doi.org/10.12659/MSM.889068>
- Minoguchi, K., Yokoe, T., Tanaka, A., Ohta, S., Hirano, T., Yoshino, G., O'Donnell, C. P., & Adachi, M. (2006). Association between lipid peroxidation and inflammation in obstructive sleep apnoea. *European Respiratory Journal*, 28(2), 378–385. <https://doi.org/10.1183/09031936.06.00084905>
- Mitchell, S., Vargas, J., & Hoffmann, A. (2016). Signaling via the NF κ B system. En *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine* (Vol. 8, Número 3, pp. 227–241). Wiley-Blackwell.
<https://doi.org/10.1002/wsbm.1331>
- Mitselou, A., Grammeniatis, V., Varouktsi, A., Papadatos, S. S., Katsanos, K., & Galani, V. (2020). Proinflammatory cytokines in irritable bowel syndrome: A comparison with inflammatory bowel disease. *Intestinal Research*, 18(1), 115–120. <https://doi.org/10.5217/ir.2019.00125>
- Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. En *Antioxidants and Redox Signaling* (Vol. 20, Número 7, pp. 1126–1167). <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>

- Moshiree, B., Heidelbaugh, J. J., & Sayuk, G. S. (2022). A Narrative Review of Irritable Bowel Syndrome with Diarrhea: A Primer for Primary Care Providers. En *Advances in Therapy* (Vol. 39, Número 9, pp. 4003–4020). Adis. <https://doi.org/10.1007/s12325-022-02224-z>
- Odenwald, M. A., & Turner, J. R. (2017). The intestinal epithelial barrier: A therapeutic target? En *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* (Vol. 14, Número 1, pp. 9–21). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2016.169>
- O'malley, D., Liston, M., Hyland, N. P., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2011). Colonic soluble mediators from the maternal separation model of irritable bowel syndrome activate submucosal neurons via an interleukin-6-dependent mechanism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 300, 241–252. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00385.2010.-Irritable>
- Panday, A., Sahoo, M. K., Osorio, D., & Batra, S. (2015). NADPH oxidases: An overview from structure to innate immunity-associated pathologies. En *Cellular and Molecular Immunology* (Vol. 12, Número 1, pp. 5–23). Chinese Soc Immunology. <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.89>
- Patel, S., Singh, A., Misra, V., Misra, S. P., Dwivedi, M., & Trivedi, P. (2017). Levels of interleukins 2, 6, 8, and 10 in patients with irritable bowel syndrome. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 60(3), 385–389. https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM_544_16
- Piche, T., Barbara, G., Aubert, P., Des Varannes, S. B., Dainese, R., Nano, J. L., Cremon, C., Stanghellini, V., De Giorgio, R., Galliche, J. P., & Neunlist, M. (2009). Impaired Intestinal barrier integrity in the colon of patients with irritable bowel syndrome: Involvement of soluble mediators. *Gut*, 58(2), 196–201. <https://doi.org/10.1136/gut.2007.140806>
- Piotrowska, M., Swierczynski, M., Fichna, J., & Piechota-Polanczyk, A. (2021). The Nrf2 in the pathophysiology of the intestine: Molecular mechanisms and therapeutic implications for inflammatory bowel diseases. En *Pharmacological Research* (Vol. 163). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105243>
- Pompili, S., Sferra, R., Gaudio, E., Viscido, A., Frieri, G., Vetuschi, A., & Latella, G. (2019). Can Nrf2 modulate the development of intestinal fibrosis and cancer in inflammatory bowel disease? En *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 20, Número 16). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms20164061>
- Rodríguez-Fandiño, O. A., Hernández-Ruiz, J., López-Vidal, Y., Charúa-Guindic, L., Escobedo, G., & Schmulson, M. J. (2017). Maturation phenotype of peripheral blood monocyte/macrophage after stimulation with lipopolysaccharides in irritable bowel syndrome. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 23(2), 281–288. <https://doi.org/10.5056/jnm16137>
- Rodríguez-Fandiño, O., Hernández-Ruiz, J., López-Vidal, Y., Charúa, L., Bandeh-Moghaddam, H., Minzoni, A., Guzmán, C., & Schmulson, M. (2013). Intestinal recruiting and activation profiles in peripheral blood mononuclear cells in response to pathogen-associated molecular patterns stimulation in patients with IBS. *Neurogastroenterology and Motility*, 25(11). <https://doi.org/10.1111/nmo.12204>
- Rodríguez-Fandiño, O., Hernández-Ruiz, J., & Schmulson, M. (2010). From Cytokines to Toll-Like Receptors and Beyond - Current Knowledge and Future Research Needs in Irritable Bowel

- Syndrome. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 16(4), 363–373.
<https://doi.org/10.5056/jnm.2010.16.4.363>
- Schmulson, M., & Chey, W. D. (2012). Editorial: Abnormal immune regulation and low-grade inflammation in IBS: Does one size fit all. En *American Journal of Gastroenterology* (Vol. 107, Número 2, pp. 273–276). <https://doi.org/10.1038/ajg.2011.427>
- Schmulson, M. J., & Drossman, D. A. (2017). What is new in Rome IV. *Journal of Neurogastroenterology and Motility*, 23(2), 151–163. <https://doi.org/10.5056/jnm16214>
- Schmulson, M., Pulido-London, D., Rodríguez, Ó., Morales-Rochlin, N., Martínez-García, R., Concepción Gutiérrez-Ruiz, M., Carlos López-Alvarenga, J., & Gutiérrez-Reyes, G. (2013). Polimorfismos de IL-10 y TNF- α en sujetos con síndrome de intestino irritable en México. En *Rev esp enferM dig* (Vol. 105). <http://ihg.gsf.de/cgi-bin/hw/hwa1.pl>.
- Shao, Y. yun, Guo, Y., Feng, X. juan, Liu, J. jin, Chang, Z. peng, Deng, G. feng, Xu, D., Gao, J. ping, & Hou, R. gang. (2021). Oridonin Attenuates TNBS-induced Post-inflammatory Irritable Bowel Syndrome via PXR/NF- κ B Signaling. *Inflammation*, 44(2), 645–658. <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01364-0>
- Sperber, A. D., Bangdiwala, S. I., Drossman, D. A., Ghoshal, U. C., Simren, M., Tack, J., Whitehead, W. E., Dumitrascu, D. L., Fang, X., Fukudo, S., Kellow, J., Okeke, E., Quigley, E. M. M., Schmulson, M., Whorwell, P., Archampong, T., Adibi, P., Andresen, V., Benninga, M. A., ... Palsson, O. S. (2021). Worldwide Prevalence and Burden of Functional Gastrointestinal Disorders, Results of Rome Foundation Global Study. *Gastroenterology*, 160(1), 99-114.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.04.014>
- Sun, S. C. (2017). The non-canonical NF- κ B pathway in immunity and inflammation. En *Nature Reviews Immunology* (Vol. 17, Número 9, pp. 545–558). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.52>
- Takeuchi, O., & Akira, S. (2010). Pattern Recognition Receptors and Inflammation. En *Cell* (Vol. 140, Número 6, pp. 805–820). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.022>
- Trevelin, S. C., Shah, A. M., & Lombardi, G. (2020). Beyond bacterial killing: NADPH oxidase 2 is an immunomodulator. En *Immunology Letters* (Vol. 221, pp. 39–48). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2020.02.009>
- Yu, T., Wan, P., Zhu, X. D., Ren, Y. P., Wang, C., Yan, R. W., Guo, Y., & Bai, A. P. (2018). Inhibition of NADPH oxidase activities ameliorates DSS-induced colitis. *Biochemical Pharmacology*, 158, 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.10.010>
- Zeng, L., Li, K., Wei, H., Hu, J., Jiao, L., Yu, S., & Xiong, Y. (2018). A novel EphA2 inhibitor exerts beneficial effects in PI-IBS in vivo and in vitro models via Nrf2 and NF- κ B signaling pathways. *Frontiers in Pharmacology*, 9(MAR). <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00272>



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00215

Matrícula: 2212801139

Relación de estrés oxidante con marcadores de inflamación en Síndrome de Intestino Irritable.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 15:00 horas del día 14 del mes de septiembre del año 2023 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. ARMANDO LUNA LOPEZ
DRA. MARIA DEL REFUGIO DENISE CLAVIJO CORNEJO
DRA. ELSA CERVANTES RIOS
DRA. MINA KONIGSBERG FAINSTEIN



ALIZON SUJEY MORALES GUZMAN
ALUMNA

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la Última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL

DE: ALIZON SUJEY MORALES GUZMAN

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ

MTRA. ROSALVA GUERRERO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSÉ LUIS GÓMEZ OLIVARES

PRESIDENTE

DR. ARMANDO LUNA LOPEZ

VOCAL

DRA. MARIA DEL REFUGIO DENISE CLAVIJO CORNEJO

VOCAL

DRA. ELSA CERVANTES RÍOS

SECRETARIA

DRA. MINA KONIGSBERG FAINSTEIN